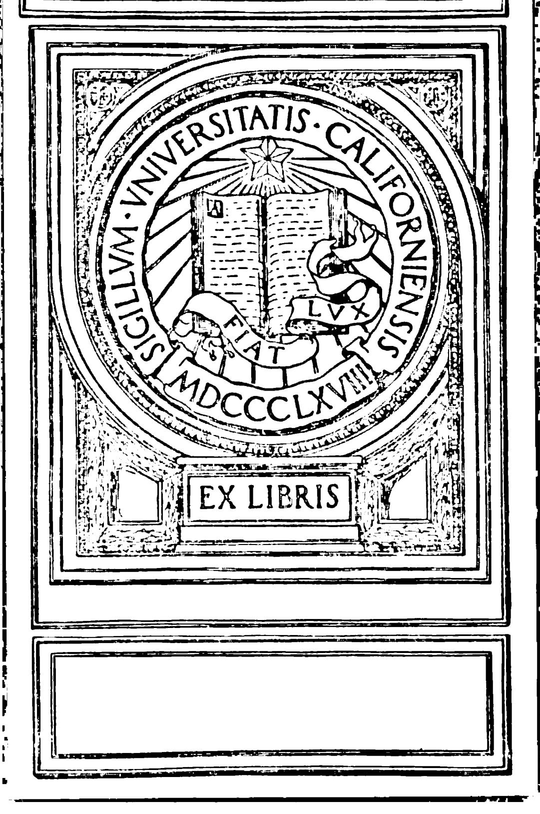

SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

# Biochemische Zeitschrift



herausgegeben von

**C. Neuberg**-Berlin

143

**Hundertdreiundvierzigster Band**




**Berlin**
**Verlag von Julius Springer**
**1923**

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig.

# Inhaltsverzeichnis.

# Kalorische und qualitative Eigenschaften von Ernährungsregimen bei Versuchen mit experimenteller Avitaminose.

Von

**L. Tscherkes.**

(Aus dem Institut der allgemeinen und experimentellen Pathologie der medizin. Fakultät in Odessa. Aus dem Reichslaboratorium für Bakteriologie und Chemie in Odessa.)

*(Eingegangen am 5. September 1923.)*

Mit 3 Kurven im Text.

Schon *C. Voit* (1) betonte die Notwendigkeit einer Wiederholung der Versuche, die das Nahrungsproblem betreffen, und zwar in einer neuen Form, in der Nahrungsmittel, die gewöhnlich dazu gebraucht wurden, durch reine chemische Komponenten (Kohlehydrate, Proteine usw.) ersetzt waren. Dabei aber äußerte er auch die Meinung, daß man aus dieser Modifikation der Versuchsanordnung keine wesentlich anderen Resultate zu erwarten habe. Diese Meinung von *C. Voit* hat sich aber nicht bewahrheitet — und in allen denjenigen Fällen, wo die Tiere anstatt natürlicher Nahrung reine chemische Komponenten derselben bekamen, gingen sie nach einiger Zeit zugrunde. Solche Beobachtungen stammen schon aus alten Zeiten, und als erste seien die Versuche von *Magendies* (2) zu nennen. Die Arbeiten von *Lunin* (3), *Socin* (4), *Hall* (5) u. a., und auch die späteren Arbeiten von *Falta* und *Noeggerath* (6) und *Jacob* (7) führten alle zu dem Ergebnis, daß die Kohlehydrate Fette, Eiweißstoffe und Aschenbestandteile, wenn sie chemisch rein den Tieren dargereicht werden, ihren Nährwert verlieren und weit davon sind, die natürliche Nahrung zu ersetzen. Dieser Umstand veranlaßte *Bunge* (8), die Vermutung auszusprechen, daß in der natürlichen Nahrung unbekannte Stoffe vorhanden seien, deren Mangel in den künstlichen Nahrungsgemischen dieselben als unvollwertig zu betrachten zwingt. In der Tat — der Zusatz zu solchen unvollwertigen Gemischen der geringsten Quantität von natürlicher Nahrung von minimalstem energetischen Werte [*Hopkins* (9)] verwandelte künstliche Nährgemische in eine vollwertige Ration. Und

schließlich von dem Augenblick, als man zu den künstlichen Gemischen Vitamine zusetzte, konnte man natürliche Nahrung durch die chemischen Komponenten ersetzen.

Da wir in unseren Untersuchungen über die Avitaminose immer genötigt waren, künstliche Nährgemische zu verwenden, so war es wichtig festzustellen, inwiefern eine Ration, welche in einer natürlichen Nahrungsform dargereicht, quantitativ als genügend zu betrachten ist, auch dann gleichwertig bleibt, wenn sie durch äquivalente künstliche Nahrungsgemische ersetzt wird.

Zum Studium der Polyneuritiden avitaminöser Natur eignen sich bekanntlich am besten die Vögel, weil die Nahrung bei der Einführung in den Kropf leicht zu dosieren ist.

Deswegen unternahmen wir das Studium des Nahrungsregims für Tauben und Hühner, die wir für unsere Versuche fortwährend verwenden. Zuerst fütterten wir eine Reihe von Tauben und Hühnern mit verschiedenen Körnern; dabei gewährten wir den Hühnern und Tauben entweder freie Wahl bezüglich der Quantität der Nahrung, oder aber wir gaben ihnen genau dosierte tägliche Rationen. Diese Orientierungsversuche zeigten, daß 5 bis 5,5 g Korn auf 100 g Tauben- oder Hühnergewicht nicht nur zur Erhaltung des Gewichtes, sondern auch zur Zunahme desselben genügend war. Diese Beobachtungen stimmen mit denjenigen von *E. Voit* (10) überein, der die Zahl 5,5 g Weizen auf 100,0 Körpergewicht der Tauben als genügend für diese Tiere betrachtete.

**Versuche.**

1. *Huhn Nr. 8* (903,0 g). Es wird dem Vogel freigelassen, die Nahrung, die vor ihm in drei Futternäpfen gelegen ist und die aus Hafer, Gerste und Mais besteht, nach Belieben zu wählen. Während einer Beobachtungszeit von 13 Tagen wurden von ihm 470 g Mais, 102 g Hafer und 90,0 g Gerste gegessen, was pro Tag 56 g Korn ausmacht. In dieser Zeit nahm die Henne um 5 Proz. des Anfangsgewichtes zu (45 g). In der Tat: die tägliche Ration war 6,3 g anstatt 5 g.

2. *Die Taube Nr. 2a* (289 g) bekam während 3 Monaten täglich 16 g Gerste (5,0 auf 100,0 g Körpergewicht), und während dieser Zeit schwankte ihr Körpergewicht zwischen 100,0 bis 103,3 Proz. des Anfangsgewichtes.

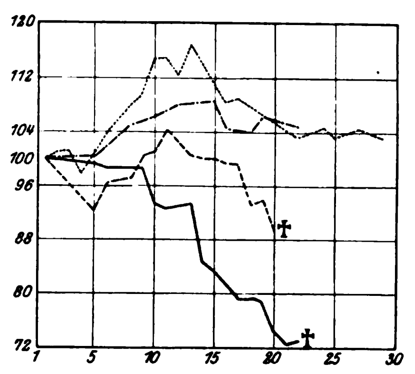
3. *Die Taube Nr. 2* (219 g) bekam täglich 20 g Gerste (9,0 auf 100,0 g Körpergewicht). In 22 Tagen hatte sie um 6 g zugenommen.

4. *Hahn Nr. 5* (985 g). Bekam während 13 Tagen (vom 15. Januar 1921) täglich 80,0 g Gerste. Während dieser Zeit hat er 132 g zugenommen. Vom 14. Beobachtungstage an wurde die Quantität der Gerste bis auf 54,0 g herabgesetzt, was 5,5 auf 100 g Körpergewicht ausmacht. Das Gewicht dieses Hahnes fing an zu sinken, blieb jedoch während einer Beobachtungszeit von 29 Tagen höher als das Anfangsgewicht.

Diese Versuche, ebenso wie andere (die an 12 Hühnern und 5 Tauben ausgeführt wurden) zeigen, daß eine Ration, die aus 5 g Korn auf

**100 g** Körpergewicht besteht, das Wohlbefinden der Tauben und Hühner genügend garantiert.

*Kontrollversuche* mit Körnern, deren Vitamine durch hohe Temperatur inaktiviert wurden (130° während 30 Minuten), führten unablässig zum Sinken des Körpergewichtes und zur Polyneuritis. So war es mit der Henne Nr. 6 und Taube Nr. 1, welche 5,5 g erhitzter (130°) Gerste auf 100 g Körpergewichts bekamen. Auf der Kurve 1 ist das Körpergewicht der Tauben Nr. 1 und 2, des Hahnes Nr. 5 und der Henne Nr. 6 im Verhältnis zum Anfangsgewicht prozentual dargestellt.




Kurve 1. Die *Abszissenachse* zeigt die Dauer der Beobachtung in Tagen und die *Ordinatenachse* das Körpergewicht der Taube in Proz. des Anfangsgewichtes.
——— Taube 1. —·—·— Taube 2.
•••••••• Hahn 5. — — — Henne 6.

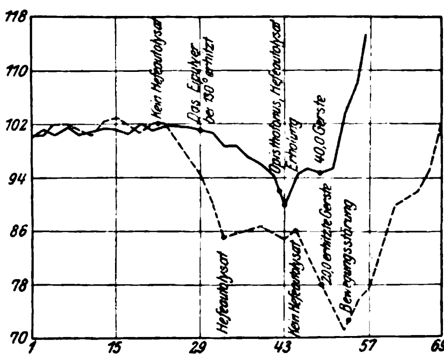
Bei der Zusammenstellung unserer Nahrungsgemische sind wir von diesen Orientierungsversuchen ausgegangen und haben angenommen, daß die für die Tauben und Hühner notwendige Quantität der Kalorien bis 17,5 auf 100,0 Körpergewicht ausmacht (gleich 5,0 Gerste auf 100,0 Körpergewicht), und daß das notwendige Eiweißbedürfnis mit 0,5 auf 100,0 Körpergewicht gedeckt wird. Diese Quantität von Proteinen ist in 5,0 Gerste enthalten. In der Tat: die Versuche haben diese Voraussetzung bestätigt.

*Taube Nr. 35* (290,0 g). Diese Taube bekam täglich ein Nährgemisch, das aus 2,9 g Eipulver, 3 g Sonnenblumenöl, 2 g Stärke und 0,5 g Salzgemisch nach *McCollum* (11) bestand. Hierzu werden noch minimale Dosen von Mangan, Jod und Silicium, wie wir schon früher beschrieben hatten, zugesetzt.

Die gesamte Quantität der täglichen Kalorien, die eine Taube bekam, war nicht viel höher als die erforderliche Zahl der Kalorien (47,25 Cal). Eierpulver wurde deswegen von uns als Protein gebraucht, weil unsere vorläufigen Beobachtungen lehrten, daß es antineuritische Eigenschaften (Vitamin B) in sich birgt.

Dieser Versuch, der in Gemeinschaft mit der Assistentin *J. Lurie* ausgeführt wurde, dauerte 56 Tage. Während einer Beobachtungszeit von 28 Tagen behielt die Taube dasselbe Gewicht, abgesehen von sehr kleinen Schwankungen (Kurve 2). Somit bestätigte das Experiment mit Nährgemischen, daß die Zahl 17,5 Cal auf 100 g des Taubengewichtes vollständig genügend ist. Am 29. Tage wurde das Eipulver während 30 Minuten bis 130° erhitzt, und von diesem Tage an fing das Gewicht der Taube an zu sinken, und am 42. Tage entstand bei ihr das Bild der Polyneuritis mit einer typischen Kontraktur der Nackenmuskeln.

Noch am selben Tage haben wir der Taube in den Kropf zum Zwecke einer Therapie 3 ccm Hefeautolysat eingeführt, was das vollständige Verschwinden der Parese und der Kontrakturen nach 5 bis 6 Stunden mit sich brachte. Am nächsten Tage war die Taube vollständig normal. Der Vogel bekam täglich Gerste, deren Quantität von 51 g an bis auf 40 g pro Tag gebracht war. Das Körpergewicht der Taube stieg so schnell in die Höhe, daß am 56. Versuchstage, als das Experiment beendet wurde, ihr Gewicht 115 Proz. des Anfangsgewichtes ausmachte. Dieser Versuch zeigte, daß im käuflichen Eipulver das Vitamin B erhalten blieb — und wenn auch nicht in vollem Maße, so doch in einem Quantum, das genügend war, um in einem Zeitraume von 4 Wochen bei einer solchen Belastung aus Eiweiß und Kohlehydraten, die wir in unseren Experimenten verwandten, die Taube vor den Erscheinungen der entwickelten Polyneuritis zu schützen. Eine andere *Taube Nr. 32* (300 g) bekam täglich ein Nährgemisch, das aus 2,0 g Casein, 1,0 g Stärke, 4,3 g Sonnenblumenöl und 0,5 g Salzgemisch bestand. Diese Nahrung bildete täglich 53,2 Cal und überwog also den Kalorienbedarf der Taube (52,5 Cal) nur um 0,7 Cal. Außerdem diente als Vitaminquelle das Hefeautolysat. Während 21 Tagen erlitt das Gewicht der Taube keine besonderen Veränderungen (Kurve 2). Vom 22. Tage ab bekam die Taube kein Autolysat mehr, und vom 24. Tage ab fängt ihr Gewicht an zu fallen und machte am 33. Beobachtungstage 85 Proz. des Anfangsgewichtes aus. Von diesem Tage ab wird zu der Diät wieder Autolysat zugesetzt, und ihr Gewicht bleibt ungefähr ohne merkliche Schwankungen. Am 45. Tage wird die Nahrung wieder ohne Autolysat gereicht, und das Gewicht sinkt wieder; dieses Sinken des Gewichtes wird nicht wieder ausgeglichen beim Ersatz (vom 50. Tage an) des Nährgemisches durch 20 g im Autoklaven erhitzte Gerste. Am 54. Versuchstage bemerkten wir einige Bewegungsstörungen, und die erhitzte Gerste wurde durch frische ersetzt. Das Gewicht der Taube stieg sofort, aber, um das Anfangsgewicht zu erreichen, waren wir am 69. Versuchstage genötigt, die Ration bis zu 40,0 g pro Tag zu erhöhen. *Diese Notwendigkeit, die Ration zu erhöhen, um das Gewicht, das infolge der Avitaminoseerscheinungen gefallen war, wieder zur Anfangshöhe zu bringen, haben wir öfter in analogen Fällen*




Kurve 2. Die *Abszissenachse* zeigt die Dauer der Beobachtung in Tagen und die *Ordinatenachse* das Körpergewicht der Taube in Proz. des Anfangsgewichtes.

— — — Taube 32. ——— Taube 35.

*als unumgänglich gefunden*[1]). Alle Versuche beweisen, daß natürliche Rationen, welche das Wohlbefinden der Tiere garantieren, durch künstliche Nährgemische, die in bezug auf Kalorien und Qualität gleichwertig sind, ersetzt werden können unter der Bedingung, daß in ihnen auch Vitamine enthalten sind.

Da aber die Versuche von *Funk* (13, 14), *Braddon* und *Cooper* (15), *Tscherkes* (12) und *Abderhalden* (16) sowohl, wie auch die Versuche, die weiter unten beschrieben werden, zeigten, daß zum normalen Stoffwechsel bestimmte Verhältnisse zwischen den Vitaminen einerseits und der Belastung mit Kohlehydrat und Eiweiß andererseits bestehen müssen, so bestehen unsere gegenwärtigen Arbeiten in dem Bestreben, festzustellen, *inwiefern der isodynamische Ersatz eines Nahrungsstoffes in einem Nahrungsgemisch, enthalten durch einen anderen, eine Veränderung des Vitamingehaltes nach sich ziehen muß.*

Seinerzeit haben *Munk* (17) und *Rosenheim* (18) eine ganze Reihe Störungen seitens der Verdauungsorgane und Nervensysteme beschrieben und hielten diese Symptome für Äußerung des von ihnen studierten Eiweißhungers. *Sivén* (19) und *Jägerros* (20) hielten diese Veränderungen für die Folge einer langdauernden einförmigen Ernährung und stellten sie denjenigen Symptomen an die Seite, die *Hagemann* (21) bei den Hunden, die eine einförmige Nahrung bekamen, beobachtete. Indessen war die Nahrung der *Hagemann*schen Hunde nicht nur einförmig, sondern auch sterilisiert und deswegen auch ohne Vitamine.

Es unterliegt also keinem Zweifel, daß, wenn auch die einförmige Nahrung bei längerem Gebrauche manche Abweichung von der Norm hervorrufen kann, die Natur dieser Abweichungen nicht aufgeklärt bleibt, denn die Versuche *Hagemanns* riefen immer die Avitaminose hervor. Da in allen denjenigen Fällen, wo die Tiere mit künstlichen Nährgemischen gefüttert wurden, auch eine längere Fütterung mit einförmiger Nahrung durchgeführt wurde, hielten wir für notwendig, in allen unseren späteren Versuchen die Möglichkeit der Folgen einer einförmigen Ernährung zu beseitigen. Deswegen unternahmen wir eine Reihe von Fütterungsversuchen mit einförmiger Nahrung, in denen Vitamine enthalten waren. Aus den Versuchen mit der Taube Nr. 32 geht schon hervor, daß eine ununterbrochene Ernährung während 50 Tagen mit einem einförmigen Gemisch keine Abweichungen von der Norm verursachte, falls die Vitamine in der Nahrung vorhanden waren. Gleiche Resultate wurden auch mit einer anderen Taube Nr. 32a erzielt, die eine analoge Nahrung während 80 Tagen bekam. Auch bei Fütterung mit einer einförmigen natürlichen Nahrung

[1]) *J. Collazo* (Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 4, S. 110. 1923) hat nachgewiesen, daß die Tiere nach dem Hungern bei Übergang auf gewöhnliche Nahrung früher als nach der Avitaminose das Anfangsgewicht erreichten.

bleiben die Resultate die gleichen. Es handelte sich um die Taube Nr. 2a, die während 3 Monaten 16 g unerhitzte Gerste bekam und in den folgenden 4 Monaten unerhitzte Gerste ad libitum bekam. Wir konnten bei dieser Taube keine Abnormitäten nachweisen. Die Sache verhielt sich ganz anders mit den Hühnern, die mit Korn gefüttert wurden; z. B. die Hennen Nr. 1 und 4 bekamen ausschließlich Gerste ad libitum, der Hahn Nr. 2 und die Henne Nr. 7 bekamen auch ad libitum ein Gemisch aus Weizen, Gerste, Mais und Hafer. Während einer Beobachtungszeit von 13 bis 14 Wochen zeigten die Vögel keinerlei Abnormitäten, aber nach dieser Frist entwickelten sich bei ihnen Zeichen einer avitaminösen Polyneuritis. Den erkrankten Hennen Nr. 1 und 4 führten wir, als sie jede Nahrung verweigerten, in den Kropf 10,0 g feingehacktes Gras. Schon am nächsten Tage verschwanden alle Zeichen der Avitaminose. Der Hahn Nr. 2 und die Henne Nr. 7 wurden während der Zunahme der paralytischen Erscheinungen in dem Garten freigelassen. *Sie fingen sofort an, die grünen Teile der Pflanzen zu fressen und ließen das vor ihnen liegende Korn unbeachtet*; nach 24 bis 30 Stunden verschwanden auch bei ihnen alle bemerkbaren Zeichen der Avitaminose.

Diese Beobachtung zeigt uns, daß eine langdauernde Fütterung der Hühner mit Körnern, selbst wenn sie nicht erhitzt waren, zur Entwicklung der Avitaminose führen kann, welche leicht durch Ernährung mit grünen Pflanzenteilen geheilt werden kann.

Es unterliegt also keinem Zweifel, daß *im Korn verhältnismäßig wenig Vitamin B vorhanden ist, das ungenügend ist, um die in den Körnern vorhandene Belastung von organischen Bestandteilen bei Hühnern lange Zeit in normalen Bahnen zu erhalten.*

Diese Minderwertigkeit einer exklusiven Kornfütterung der Vögel ist den Landwirten gut bekannt. Die Unvollwertigkeit der Fütterung der Tiere mit Korn, besonders während der Wachstumsperiode, wurde von *Hart* und *McCollum* (22) hervorgehoben. Sie haben ebenso wie ich festgestellt, daß dieser Mangel leicht durch Zulage von grünen Pflanzenteilen beseitigt werden kann. Ein besonderer Wert wird in dieser Beziehung der Wirkung von Alfalfa-Heu (Medigata Sativa) beigelegt. Dieser Gesichtspunkt entspricht den Versuchen von *Boruttau* (23), der nachgewiesen hatte, daß der niedrige biologische Wert der Eiweißsubstanzen des Mehls, auf den *Thomas* (24) hinwies, dadurch gesteigert werden kann, daß man zum Mehl Spinat oder Strohpulver zusetzt[1]).

Die oben ausgeführten Beobachtungen sprechen dafür, daß keines von allen Symptomen, die bei Anwendung unserer Diät entstanden (Appetitverlust, Erbrechen usw. inbegriffen), auf Kosten einer ein-

[1]) *Friedentals* Präparat. Spätere Versuche von *Boruttau* (25) haben gezeigt, daß die Steigerung des biologischen Wertes im Sinne *Thomas* nicht vollständig mit der Wirkung der Vitamine erklärt werden kann.

förmigen Fütterung als solcher bezogen werden kann. Wenn solche Veränderungen auch vorkommen, so entstehen sie entweder später, oder aber werden durch Avitaminosesymptome maskiert.

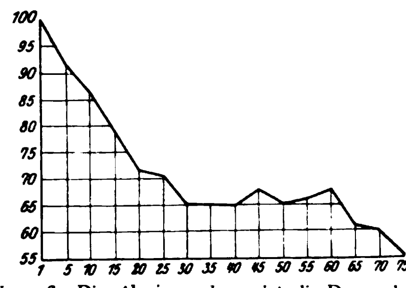
Diese Experimente heben den Umstand hervor, auf den wir bereits unsere Aufmerksamkeit lenkten (12, 26, 27) und welchen auch *C. Funk* (14) und *E. Abderhalden* (16) beobachteten, und zwar, daß die *Geschwindigkeit und Intensität der Avitaminoseerscheinungen hauptsächlich von dem Charakter der Diät abhängt, welche den Vitaminhunger begleitet. Abderhalden* (16, 28) weist sogar darauf hin, daß in Fällen von vollständigem und unvollständigem Hunger die Erscheinungen der „alimentären Distrophie" sich überhaupt nicht entwickeln. Immerhin beobachteten *Chamberlein, Bloombergh* und *Kilbourne* (29) noch im Jahre 1911 bei einem vollständigen Hungern ein typisches Bild der avitaminösen Polyneuritis. Diese Beobachtungen wurden später von *Eijkman* (30) bestätigt. Bei dieser Gelegenheit haben wir schon die Voraussetzung ausgesagt, daß es sich im gegebenen Falle auch um einen aberrativen intermediären Stoffwechsel der Kohlehydrate, Proteine und vielleicht auch Fette handelt, welche jedoch aus den Gewebsvorräten hereinkommen.

Zweifellos ist *für den intermediären Stoffwechsel eine gewisse Menge der Nahrungsstoffe* (hauptsächlich Kohlehydrate), *ebenso auch eine gewisse Quantität der Vitamine erforderlich.* Aber im Falle einer Störung eines solchen Verhältnisses können sich die avitaminösen Erscheinungen trotz des Vorhandenseins der Vitamine in der Nahrung entwickeln, wie dies bei den obenerwähnten Experimenten mit den Hühnern stattfand. Diese Tatsache, daß das Nahrungsregime, welches die Tauben gegen Polyneuritis schützte, sich als ungenügend erwies, um die Hühner gegen Polyneuritis zu schützen, bekräftigt die Meinung, daß die Sensibilität in bezug auf den Mangel an Vitamin B sogar bei den sehr nahestehenden Tierklassen sehr verschieden ist. Auf eine derartig schwankende Sensibilität verschiedener Klassen der Tiere in bezug auf einen partiellen Hunger an Vitamin C weisen *Harden* und *Zilva* (31), *H. Sherman* (32) und *Parson* (33) hin. Ebensooft variiert die Sensibilität bei verschiedenen Exemplaren der Tiere sogar von ein und derselben Klasse und dabei mit einer bedeutenden Amplitude der Schwankungen, welche ohne Zweifel allen denen bekannt ist, die auf dem Gebiete der Avitaminosen zu experimentieren pflegen. Diese charakteristische individuelle Sensibilität einer avitaminösen Nahrung gegenüber verschiedenen Exemplaren von Fischen von ein und derselben Gattung stellte *W. Laufberger* (34) fest.

In bezug auf die Tauben und Hühner besitzen wir eine Menge von gleichen Beobachtungen, von denen wir bloß die eine, und zwar die deutlichste anführen: Taube Nr. 80 lebte, indem sie sich in einem gemischten Vitamin-, Kohlehydrat- und Kalorienhungerzustande befand, 75 Tage lang (bekam bloß 50 Proz. des normalen Kalorienbedarfs). Die Schwankungen ihrer Gewichtskurve sind auf der Kurve 3 angeführt. Wir

haben keinen Grund, ihre Lebensdauer auf die Abwesenheit der Kohlehydrate und den Kalorienmangel zurückzuführen, da die Lebensdauer einer ganzen Anzahl anderer Tiere, die sich nie bei den Experimenten, welche in unserem Laboratorium von Dr. *E. Schulmann* vorgenommen wurden, auch auf einer gleichen Diät befanden, nicht 40 Tage überschritt.

Oben wiesen wir auf die Tatsache hin, daß die avitaminös erkrankten Hühner, die schon jede Nahrung verweigerten, im Garten die in ihrer Nähe umherliegenden Körner unbeachtet ließen, nach grünen Pflanzen fahndeten, als ob sie durch den Instinkt ihren Reichtum an Vitaminen vorahnten[1]). Diese Fähigkeit der Tiere, die an Avitaminose erkranken, eine vitaminreiche Nahrung von einer vitaminarmen zu unterscheiden, wurde von uns in allen unseren Versuchen beobachtet.




Kurve 3. Die *Abszissenachse* zeigt die Dauer der Beobachtung in Tagen und die *Ordinatenachse* das Körpergewicht der Taube in Proz. des Anfangsgewichtes. Taube 80.

Diät: Eiweiß 2,0; Fette 2,0; Salzmischung 0,5; Kohlehydrate 0; Vitamine 0
Das Tier bekommt 26,8 *Cal* (notwendig — 56,8 *Cal*).

Sich rasch zurechtfindend, verschmähen sie gänzlich die vitaminlose Nahrung, *eher den Hungertod wählend, als sich dem Avitaminosesiechtum ergebend*, fallen sie gierig über die vitaminreiche Nahrung her.

Wenn wir der Henne oder Taube, die die Nahrung nach Fütterung mit erhitzter Gerste verweigern, erhitzte und unerhitzte Gerste gemischt vorlegen, fängt das Tier an, gierig die letztere zu picken, indem sie sie aus der gesamten Menge aussucht. Auch wenn erhitzte Gerste mit erhitztem Mais zusammengemengt wird, sucht die Henne (nachdem man sie einige Zeit mit erhitzter Gerste gefüttert hatte) nur Mais aus. Diese Bevorzugung der bearbeiteten Maiskörner (oder Weizen) macht sich bei den Vögeln nur kurze Zeit bemerkbar: ungefähr von einigen bis 24 Stunden. Nach dieser Zeit verschmähen sie auch diese Körner. Dagegen, wenn wir den Tieren *frische* Körner (Gerste, Mais, Weizen) in kleiner Menge reichen, so fahren sie fort, die Körner bis zu dem Augenblick zu fressen, wo die allgemeine Apathie und Schwäche sie am Picken verhindert. Somit beziehen sich in diesem Falle der Appetit-

---

[1]) Damit ist vielleicht auch der norwegische Brauch zu erklären, der darin besteht, daß Skorbutkranke auf Inseln gebracht werden, die reich an Brombeeren (Chamemorum Norvegicum) sind. Die Genesung manifestiert sich schon nach kurzer Zeit. *Lind* (35) zeigte schon im 18. Jahrhundert, daß die Skorbutkranken oft von frischem Gemüse und Früchten träumen

mangel und die Nahrungsverweigerung nicht auf die Einförmigkeit der Nahrung als solche, sondern auf die vitaminlose Nahrung. Diese Tatsache, die mehıfach von uns beobachtet wurde, stimmt vollkommen mit den Beobachtungen von *Miyadera* in *Bickels* (36) Laboratorium an Fistelhunden überein. In seinen Versuchen führte die avitaminöse Nahrung zur Verminderung der Magensekretion, jedoch die Probegabe von verdünntem Alkohol führt wieder eine sofortige Sekretion herbei — als Beweis dafür, daß die Fähigkeit zur Sekretion ungestört bleibt und eben nur der vitaminlosen Nahrung die Fähigkeit fehlt, sie hervorzurufen.

**Literatur.**

1) *C. Voit*, Hermanns Handb. d. Physiol. **6**, 19, 1881. — 2) *Magendies*, Raport au nom de la commis dite de la gelatine. C. r. de l'Acad. de Paris **12**, 237, 1841. — 3) *N. Lunin*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **5**, 31, 1881. — 4) *C. Socin*, ebendaselbst **15**, 93, 1893. — 5) *W. S. Hall*, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1896, S. 142. — 6) *W. Falta* und *C. Noeggerath*, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 313, 1906. — 7) *L. Jacob*, Zeitschr. f. Biol. **48**, 19, 1906. — 8) *G. Bunge*, Lehrb. d. physiol. u. pathol. Chem., 2. Aufl., 1889, S. 106. — 9) *F. Hopkins*, *Journ.* of Physiol. **44**, 425, 1912. — 10) *E. Voit*, zitiert nach *Jacob* (7). — 11) *E. V. McCollum*, Journ. Amer. med. Assoc. **68**, 1379, 1917. — 12) *L. Tscherkes*, diese Zeitschr. **188**, 75, 1922. — 13) *C. Funk*, Proc. of the Phys. Soc., Dez. 1913. — 14) *C. Funk*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 373 und 378, 1914. — 15) *W. Braddon* und *E. Cooper*, Journ. of Hyg. **14**, 331, 1914. — 16) *E. Abderhalden*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **197**, 105, 1922 (21. Mitteilung). — 17) *J. Munk*, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1891, 338; Virchows Arch. **182**, 91, 1893. — 18) *Th. Rosenheim*, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1891, S. 341; Pflügers Arch. **54**, 61, 1893. — 19) *V. Sivén*, Skand. Arch. f. Physiol. **10**, 91, 1910. — 20) *B. Jägerros*, ebendaselbst **13**, 375, 1912. — 21) *O. Hagemann*, Beitr. z. Kenntnis des Eiweißumsatzes in tier. Organism. Inaug.-Diss., Berlin 1891. — 22) *E. Hart* und *E. McCollum*, Journ. of. biol. Chem. **19**, 373, 1914; Proc. of the Amer. Soc. of biol. Chem., S. 27—29, Dez. 1915 (Journ. of. biol. Chem. **24**, 28, 1916). — 23) *H. Boruttau*, diese Zeitschr. **69**, 225, 1915. — 24) *K. Thomas*, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1909, H. 2—3, S. 219. — 25) *Boruttau*, diese Zeitschr. **82**, 96, 1917. — 26) *L. Tscherkes*, ebendaselbst **137**, 121, 1923. — 27) *Derselbe*, Sammelwerk „Der Hunger". Charkow 1922 (russisch). — 28) *E. Abderhalden*. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **197**, 89, 1922 (19. Mitteilung). — 29) *W. Chamberlein*. *H. Bloombergh* and *H. Kilbourne*, Philip. Journ. Sc. **6** (B), 177, 1911. — 30) *C. Eijkman*, Virchows Arch. **222**, 301, 1916. — 31) *Harden* und *Zilva*, Biochem. Journ. **14**, 121, 1920. — 32) *H. Sherman*, Physiol. Reviews **1**, 598, 1921. — 33) *H. Parson*, Journ. f. biol Chem. **44**, 587, 1920. — 34) *W. Laufberger*, Pflügers Arch. **198**, 31, 1923. — 35) *A. Lind*, Aeatise on the Scurvy 1772. — 36) *A. Bickel*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr 3, S. 110.

# Arbeitsphysiologische Studien mit dem Respirationsapparat.

Von

**Edgar Atzler, Robert Herbst** und **Gunther Lehmann.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Arbeitsphysiologie.)

*(Eingegangen am 10. August 1923.)*

Mit 8 Abbildungen im Text.

Der Existenzkampf unseres deutschen Wirtschaftskörpers ist so hart, daß alle Kräfte mobilisiert werden müssen, die irgendwie nutzbar verwertet werden können. In erster Linie sind es zwar Kaufleute und Ingenieure, welche die Kerntruppe in diesem Kampfe bilden; aber ebenso wie im Weltkriege die Armee über technische Truppen, die mit dem modernsten naturwissenschaftlichen Rüstzeug ausgestattet waren, verfügte, so müssen auch für den wirtschaftlichen Kampf die Naturwissenschaften mit herangezogen werden. Chemie, Physik, experimentelle Psychologie und andere Disziplinen haben schon seit langem unser Wirtschaftsleben in segensreicher Weise befruchtet. Die Physiologie hielt sich aber, von wenigen Ausnahmen abgesehen, bisher bescheiden im Hintergrunde. Und doch winkt gerade ihr ein reiches Betätigungsfeld.

Über die der Physiologie erwachsenden Aufgaben und die Wege, die zur Lösung derselben eingeschlagen wurden, zu berichten, soll der Zweck dieser Veröffentlichungen sein. Im Hinblick auf den Charakter dieser Zeitschrift sollen allerdings die rein praktischen Probleme nur so weit ausgeführt werden, als wir glauben, die medizinischen Fachgenossen auf dem Laufenden halten zu müssen. Dagegen sollen alle die Zweige der neuen Forschungsrichtung, die neben ihrem praktischen Nutzen unsere wissenschaftliche Erkenntnis, wenn auch in bescheidenem Umfange, vermehren, eingehender behandelt werden.

Die industrielle Entwicklung des vergangenen Jahrhunderts hat zur Folge, daß ein großer Bruchteil unserer Bevölkerung an Maschinen arbeiten muß. Nicht nur in der Industrie, auch in der Land- und Forstwirtschaft erobern sich die Maschinen immer weitere Gebiete. Die Maschine arbeitet mit der fortschreitenden Entwicklung immer vollkommener, aber die Anpassung des Menschen an die Maschine hat mit dieser Entwicklung nicht gleichen Schritt gehalten. Interessierte man sich bisher in erster

Linie für den Wirkungsgrad der Maschine, so beginnt man jetzt, auch vom Menschen die Höchstleistung zu verlangen.

*Taylor* wirkte in dieser Beziehung bahnbrechend. Er ermittelte zunächst die günstigste Form verschiedener Handwerkszeuge, ordnete den Arbeitsplatz möglichst praktisch an und sorgte dafür, daß der Arbeiter alles Nötige bequem zur Hand hat. Dann ermittelte er durch Zeitstudien an einem besonders tüchtigen Handwerker die tägliche Leistung und gewann damit einen Maßstab für die Eignung neu anzustellender Arbeiter. Es gelang ihm in der Tat, durch eine solche Rationalisierung die Produktion zu steigern. Wie weit allerdings die gesteigerte Produktion nicht in einer Rationalisierung, sondern in einer Intensivierung der Arbeit besteht, ist schwer zu sagen. Das System hat zweifellos sehr große Vorzüge: es ist für jede Arbeit anwendbar. Nicht nur im Fabriksaale, auch bei den land- und forstwirtschaftlichen Betrieben kann das Taylorsystem die Leistung steigern. Ja selbst in den Bureaus hat man von den *Taylor*schen Prinzipien mit Vorteil Gebrauch gemacht. Das System erzieht zur Ordnung und lehrt, möglichst ökonomisch zu arbeiten.

So wie das System in Amerika durchgeführt wurde, haften ihm allerdings Nachteile an, die einer allgemeinen Einführung in Deutschland hindernd im Wege stehen. In den Taylorbetrieben kann nur der voll Leistungsfähige sein Brot verdienen. Für Krüppel und Schwächlinge sind nur wenige Stellen frei. Es sind zum Teil recht gewaltige Arbeitsleistungen, die dort vollbracht werden, die unsere Arbeiterschaft zu dem Schlagwort: Taylorsystem — Quälersystem veranlaßt haben. Auch in wissenschaftlichen Kreisen macht man *Taylor* vielfach den Vorwurf, daß er Raubbau an der menschlichen Arbeitskraft treibe. Das ist auch kürzlich in einer Arbeit von *Doevenspeck*[1]) auseinandergesetzt worden. Dieser Autor stellte sich die Aufgabe, den Kalorienverbrauch eines nach dem *Taylor*schen System arbeitenden Eisenbarrenverladers zu berechnen. Er kommt zu dem Ergebnis, daß die tägliche Arbeitsleistung das Maß eines Rennfahrers auf dem Sechstagerennen übersteigt. Wäre dies tatsächlich der Fall, so müßte man sich dem Urteil dieses Autors anschließen, der meint, daß eine solche Leistung auf die Dauer unter keinen Umständen von einem Arbeiter verlangt werden darf.

Nun sind aber *Doevenspeck* einige bedauerliche Fehler unterlaufen. Er meint z. B., die Arbeit, die man beim Tragen einer Last von $P$ kg über eine horizontale Strecke von $a$ m leistet, durch $Pa$ mkg ausdrücken zu können. Der eine von uns (*Lehmann*) hat unter Vermeidung dieser Fehler die tägliche Arbeitsleistung der Versuchsperson *Taylors* nachgerechnet. Es ergab sich, daß die tägliche Arbeit einem Werte von 5450 Cal entspricht. Da der von *Taylor* untersuchte Arbeiter ein wahrer „Gorilla" mit Menschenverstand gewesen sein soll, so liegt eine solche gewaltige Arbeitsleistung immerhin im Bereich der Möglichkeit. Man darf sie aber nicht als allgemeinen Maßstab zugrunde legen.

Wir sehen also, daß das Taylorsystem neben Licht- auch Schattenseiten aufweist. Taylor war Ingenieur und Organisator, aber kein Physiologe. Sein Werk muß von physiologischer Seite ergänzt werden, dann wird es möglich sein, die Hauptnachteile des Taylorsystems zu

---

[1]) *H. Doevenspeck,* Taylorsystem und schwere Muskelarbeit. Leipzig 1923.

vermeiden. Hatte *Taylor* bei seinen Rationalisierungs- und Intensivierungsbestrebungen das Hauptaugenmerk auf die Ergiebigkeit der Arbeit gerichtet, so ist es Aufgabe des Physiologen, einen gerechten Ausgleich zu schaffen zwischen den Interessen des Arbeiters und denen des Unternehmers. Das jeweils mögliche Optimum der Leistung soll vom Arbeiter bei einem Minimum von Energieaufwand vollbracht werden. Ferner soll das tägliche Arbeitspensum so bemessen sein, daß die Arbeitskraft möglichst lange Zeit erhalten bleibt.

In den taylorisierten Betrieben klagt man vor allem über die rasche Abnutzung der Arbeiter. Gerade dieser Umstand hat es bewirkt, daß das Taylorsystem in den Vereinigten Staaten immer mehr an Bedeutung verliert. Auch bei uns in Deutschland nimmt die Leistung des Fabrikarbeiters etwa vom 40. Jahre an ab. Bei den Arbeiterinnen setzt diese Abnahme schon mit ungefähr 35 Jahren ein. Auch in Österreich liegen die Verhältnisse bis vor kurzem ähnlich, wie *Durig*[1]) beschrieben hat.

Diese rasche Abnahme der Leistungsfähigkeit ist typisch für den Industriearbeiter, der Landarbeiter bewahrt sich seine Arbeitskraft fast ungeschmälert bis ins hohe Alter. Ein sicherer Prüfstein für den sozialen Wert eines Systems ist die Höhe der Invaliditätsgrenze. Je höher sie liegt, um so besser sind Arbeit und allgemeine Lebensbedingungen geregelt. Selbstverständlich sind für einen frühzeitigen Verbrauch der Leistungsfähigkeit des Fabrikarbeiters viele Faktoren verantwortlich zu machen, deren Untersuchung nicht in den Aufgabenkreis des Physiologen gehört. Wir denken hierbei in erster Linie an unhygienische Arbeitsplätze, an Gewerbekrankheiten, an ungesunde Wohnungen, an schlechte Lebensgewohnheiten des Arbeiters, an den verheerenden Einfluß alkoholischer und anderer Exzesse. Auch psychische Einflüsse, wie die Monotonie mancher Fabrikarbeit, das Geräusch der Maschinen, die Sorge um die Zukunft, die Verhetzungen usw. und viele andere seelische Momente können auf die Dauer die Arbeitsfreude und damit auch die Leistung herabsetzen. Wissen wir doch, daß eine widerwillig verrichtete Arbeit unter größerem Energieaufwand geleistet wird als eine mit Lust und Liebe ausgeführte Tätigkeit.

Sieht man von den genannten schädigenden Momenten ab, so bleibt noch eine Reihe von Faktoren übrig, die sehr wohl für das vorzeitige Altern mit in Betracht kommen. Es handelt sich hierbei um Verstöße gegen ein Gesetz, das wir als das physiologische Arbeitsgesetz bezeichnen können. Dies wäre etwa wie folgt zu formulieren: Unter physiologischen Arbeitsbedingungen darf das tägliche Arbeitsmaß nur so hoch bemessen sein, daß in der arbeitsfreien Zeit eine vollständige Restitution der Körperkräfte erfolgt. Wird gegen dieses Gesetz verstoßen, so werden Energiereserven verbraucht. Bei dauernd negativer Bilanz tritt vorzeitige Abnutzung ein.

---

[1]) *A. Durig*, Die Ermüdung. Das österr. Sanitätswesen, 28. Jahrg., 1916, Beiheft zu Nr. 18/21. Wien 1916.

Es bleibt der weiteren Forschung vorbehalten, zu untersuchen, wo in der Industrie Verstöße gegen dieses Gesetz vorkommen. Daß sie vorkommen, ist daraus erklärlich, daß die Industriearbeit nicht auf eine jahrhundertelange Erfahrung zurückblickt wie das Handwerk. Es hat sich in der kurzen industriellen Epoche noch kein gesunder Gleichgewichtszustand zwischen verlangter Leistung und Beanspruchung des Arbeiters herausgestellt. An einem Beispiel wollen wir zeigen, wie ein solches Mißverhältnis zustande kommen kann.

Viele Maschinen schreiben durch ihre Geschwindigkeit das Arbeitstempo vor, während beim Handwerk der Mensch das Arbeitstempo sich selbst wählen kann. Wir überzeugten uns in orientierenden Versuchen, daß für eine bestimmte Arbeit, wie Drehen einer Kurbel, geübte muskelkräftige Individuen ungefähr alle das gleiche Arbeitstempo wählten, während ungeübte meist bedeutend langsamer, seltener schneller als die geübten, aber fast nie in dem anscheinend zweckmäßigen Arbeitstempo drehten. Die Gefahr liegt nahe, daß der Maschinenkonstrukteur die Geschwindigkeit so unglücklich wählt, daß der die Maschine bedienende Arbeiter sich ganz unökonomisch betätigt. Wie schädlich aber ein ungünstiges Arbeitstempo ist, darauf hat kürzlich *Durig*[1]) hingewiesen: „Es scheinen manche Erfahrungen dafür zu sprechen, daß der in großer Hast, vielleicht mit einem Übermaß von Innervation Arbeitende sich schneller konsumiert und auch eher der Arteriosklerose zuneigt als derjenige, der mit langsamer, überlegter Anwendung seiner Kraft dieselbe Leistung vollbringt."

Es erwächst also dem Physiologen die Aufgabe, die Energieabgabe zeitlich und größenmäßig für jeden Beruf so zu regeln, daß die Leistungsfähigkeit möglichst lange erhalten bleibt. Man wird also in erster Linie Auskunft geben müssen über die Länge der Arbeitszeit, über die Dauer und Verteilung der Ruhepausen. Es genügt natürlich nicht, diese Angaben lediglich auf Arbeiter zu beziehen, die sich auf der Höhe ihrer Leistungsfähigkeit befinden. Auch Jugendliche, Frauen, Kriegsbeschädigte und Schwächlinge müssen sich ihr Brot verdienen.

Aber auch dem Fabrikationsprozeß selbst muß der Physiologe sein Interesse zuwenden. Es wird sich ihm häufig genug die Möglichkeit bieten, die Leistung zu steigern, ohne daß eine Schädigung des Arbeiters zu befürchten ist. Auch ist für Berufe, die an die körperliche Leistungsfähigkeit besonders hohe Anforderungen stellen, manche Erleichterung zu erhoffen. Gelingt es beispielsweise beim Bergarbeiter, durch Ausschaltung unzweckmäßiger Bewegungen die geforderte effektive Leistung in kürzerer Zeit zu vollbringen, so kann zu einer Verkürzung der Arbeitszeit geschritten werden. Dies hat den großen Vorteil, daß der Kräfteaufwand niedriger ist, weil in der gekürzten Arbeitszeit weniger Energie für die Leerbewegungen (Arbeiten in unnatürlicher, gezwungener Haltung) verbraucht wird. Natürlich wird nur der Physiologe entscheiden können, bis zu welchem Grade die Rationalisierung getrieben werden darf. Wird die zu leistende Arbeit auf eine

---

[1]) *Durig*, l. c.

zu kurze Zeit zusammengedrängt, so wird der Energieverbrauch in der Zeiteinheit so hoch, daß hieraus wieder eine Schädigung resultiert.

Es würde zu weit führen, im Rahmen dieses Aufsatzes auch nur annähernd alle die Zweige der Physiologie anzuführen, die für die Arbeitsphysiologie und deren Probleme in Betracht kommen. Es sind vorwiegend die Kapitel über die Physiologie des Muskel- und Nervensystems, des Kreislaufs und der Atmung, der Ernährung und des Stoffwechsels, von denen wir ausgehen müssen.

Alle diese Gebiete der Physiologie bilden eine wertvolle Fundgrube für die Arbeitsphysiologie, meistens sind aber die theoretischen Erkenntnisse noch nicht ohne weiteres für die Praxis zu verwerten. Sie müssen erst eine Umprägung erfahren, ehe die Allgemeinheit Nutzen aus ihnen ziehen kann. In dieser Hinsicht sind schon einige Ansätze gemacht. Von deutschen Physiologen hat hier besonders *Durig* Wertvolles geleistet. Seine Studien über die Ermüdung und über das Taylorsystem in der Medizin geben wichtige Anregungen. Durch seinen Schüler *Reach*[1]) zeigte er im Respirationsversuche, welche entscheidende Rolle die Physiologie auch bei technischen Problemen zu spielen vermag. Es handelte sich um die Frage des zweckmäßigen Antriebes einer Milchzentrifuge für Handbetrieb. Der Stoffverbrauch wurde einmal festgestellt bei Kurbelantrieb, das andere Mal bei Ellipsenkurbelantrieb (ähnlich dem Radantrieb bei Krankenselbstfahrern). Diese Arbeitsrichtung ist sehr ausbaufähig. Wir werden später noch Gelegenheit finden, auf diese Arbeit zurückzukommen.

Einen etwas anderen Weg hat *Jules Amar* eingeschlagen, auch er verfolgt bei seinen Arbeiten das Ziel, vom Menschen eine Höchstleistung bei minimalem Kräfteverbrauch zu erlangen. Seine Erfahrungen und Gedanken hat er kürzlich in dem Buche „Organisation du travail"[2]) festgelegt. Durch graphische Methoden bestimmt er am Handwerkszeug (Hobel, Feile, Schaufel) die aufgewandten Kräfte. So wird beispielsweise beim Feilen die Kraft, mit welcher die rechte Hand den Griff hält und diejenige, mit welcher die linke auf dem Feilenende lastet, registriert. Ferner werden ungeschickte Bewegungen des Werkzeuges, ebenso überflüssige Bewegungen des Körpers, wie auch die Arbeitsgeschwindigkeit und der Rhythmus aufgeschrieben. Die Kurven geben einerseits ein Bild über die Eignung des Arbeiters, andererseits kann man mit Hilfe dieser Methode die Fortschritte eines Lehrlings verfolgen. Dem Ungeübten kann gesagt werden, auf welche Fehler seine unbefriedigende Leistung zurückzuführen ist. *Amar* behauptet nun, aus Atmungs-, Pulskurve und Sauerstoffverbrauch den Moment ablesen zu können, wo die Grenze der zulässigen Ermüdung des Menschen überschritten wird. Kombiniert er also die oben beschriebenen Arbeitsregistrierverfahren mit Puls- und Atmungsregistrierung, so hat er die Möglichkeit, aus den erhaltenen Kurven das geleistete äußere Arbeitsquantum zu berechnen, die Qualität der Arbeit zu beurteilen und die körperliche Eignung des Arbeiters zu erkennen. Auch kann er Angaben über die Länge der Arbeitszeit und die Dauer und die Anordnung der Ruhepausen machen.

---

[1]) *Reach*, Landw. Jahrb. 1908, S. 1053.

[2]) *Jules Amar*, Organisation du travail. Paris 1916.

Wie weit das *Amar*sche System der Wirtschaft bereits genutzt hat, geht aus der uns zugänglichen Literatur nicht hervor. Wir wollen auch die Frage offen lassen, ob man tatsächlich berechtigt ist, aus dem Charakter der Puls- und Atemkurve Schlüsse auf die Ermüdung zu ziehen[1]).

Diese Forschungsrichtung wird zweifellos für alle diejenigen Arbeitsprozesse mit gewissem Nutzen verwandt werden können, bei denen relativ einfaches Handwerkszeug und Maschinen in Frage kommen. Die Methode der Registrierung erfordert aber für jedes Handwerk komplizierte, für jeden Fall besonders zu konstruierende Registriervorrichtungen, und gerade diese Kompliziertheit wird für die so überaus mannigfaltigen industriellen Arbeitsprozesse störend sein. Es würde jedenfalls sehr lange Zeit in Anspruch nehmen, bis auf diese Weise die wichtigen Probleme der industriellen Arbeit auch nur annähernd geklärt sind.

Für praktische Verhältnisse läßt sich das *Amar*sche Verfahren auch aus anderen Gründen schwer anwenden. Fabrikbesitzer und Fabrikarbeiter würden solchen Untersuchungen nicht sehr sympathisch gegenüberstehen. Die Unternehmer würden befürchten, daß die Arbeiter eine um so höhere Bezahlung fordern, je höher die Pulsfrequenz während der Arbeit steigt, während der Arbeiter hinter jedem Versuche einer Steigerung der Leistung die Gefahr einer Ausbeutung, einer Stellenverminderung oder einer Herabsetzung der Löhne wittert. Außerdem werden Arbeiter, die sich zu solchen Untersuchungen im Fabriksaale hergeben, von ihren Kameraden meist so stark gehänselt, daß man auf eine längere Beobachtungsdauer nur in Ausnahmefällen rechnen darf.

Diese Gründe veranlaßten uns, einen etwas anderen Weg einzuschlagen. Auch uns kommt es darauf an, den Arbeitsvorgang zu rationalisieren und das physiologisch zulässige Arbeitsquantum zu bestimmen. Das setzt aber voraus, daß man den Energieverbrauch des Arbeiters bei einer bestimmten Leistung kennt und daß man sagen kann, wie hoch die effektive Arbeit pro Tag bemessen sein darf.

Die Größe des Energieverbrauchs zu bestimmen, macht an sich keine Schwierigkeit. Es existieren eine Menge von Respirationsapparaten, die sich ausgezeichnet für solche Arbeitsversuche eignen. Die Untersuchungen im Fabriksaale vorzunehmen, ist, wie oben auseinandergesetzt wurde, nicht gut möglich. Wir mußten also die Untersuchungen an uns selbst vornehmen. Damit war auch die Garantie gegeben, daß die für jeden Respirationsversuch nötigen Verhaltungsmaßregeln aufs gewissenhafteste befolgt werden.

Es wäre nun eine planlose Arbeitsmethode gewesen, wenn wir uns die Aufgabe gestellt hätten, die unzähligen, im praktischen Leben vorkommenden Arbeitsprozesse respiratorisch zu untersuchen. Einerseits hätten wir dann keine Aussicht gehabt, der Industrie in absehbarer Zeit brauchbares Zahlenmaterial zur Verfügung zu stellen, andererseits wäre es auch nicht möglich gewesen, die Bewegungen eines Arbeiters

---

[1]) Siehe hierzu auch *A. Durig*, Die Ermüdung, S. 57.

mit allen Variationen des Tempos, der Leistung, der Erholungspausen genau zu kopieren.

Beobachtet man im Fabrikbetrieb Leute, welche dieselbe Arbeit verrichten, so wird man sich davon überzeugen können, daß dem Arbeitsvorgang eine starke persönliche Note anhaftet, die sich im Respirationsversuche in recht beträchtlichen Schwankungen des Gaswechsels ausdrücken wird. Die Untersuchungen, welche sich mit dem Gaswechsel beim Handwerk befassen, werden also höchstens Durchschnittswerte liefern, die einen gewissen Anhaltspunkt für die Beurteilung der Schwere der Arbeit geben. So wichtig und interessant auch die hierher gehörigen Arbeiten von *Sondén* und *Tigerstedt*[1]), *Wolpert*[2]), *Becker* und *Hämäläinen*[3]) und *Benedict*[4]) über den Energieverbrauch bei den verschiedenen Berufen sind, so wenig können uns diese Zahlen für unser Problem nützen.

Die Fabrikarbeit setzt sich aus einer Summe von Elementarbewegungen zusammen. Diese Elemente werden teils für nutzbringende Arbeit verwandt, teils stellen sie Leerlaufbewegungen dar, die als eine Art Verbindungsstück dienen. Will man einen Arbeitsprozeß rationalisieren, so darf man nicht die Gesamtsumme der Arbeit, sondern die sie zusammensetzenden Arbeitselemente betrachten.

Durch fleißigen Besuch von Fabriken und durch Betrachtung von zahlreichen Arbeitsfilmen, die uns von der *Fachfilm A.-G.*, Berlin, zur Verfügung gestellt wurden, fanden wir, daß sehr viele solcher Bewegungselemente in den meisten Fabrikbetrieben immer wiederkehren. Wir schätzen ihre Zahl auf etwa 35 bis 40.

Aus praktischen Gründen bearbeiteten wir die Elemente zuerst, welche mit schwerer körperlicher Anstrengung verbunden sind und in der Großindustrie besonders häufig vorkommen.

In den vorliegenden Studien werden wir die Arbeit des Kurbeldrehens unter dem Gesichtspunkte der Rationalisierung der Arbeit behandeln. Anhangsweise werden wir auch auf das Gewichtheben zu sprechen kommen. Auf die Einzelheiten werden wir im experimentellen Teile eingehen, hier wollen wir nur am Beispiele des Kurbeldrehens unseren Versuchsplan auseinandersetzen. Der Maschinenkonstrukteur muß wissen, welche Belastung, Achsenhöhe, Kurbeldurchmesser er zu wählen hat, damit der Arbeiter für eine zu erzielende Leistung mit einem Minimum von Kraftaufwand auskommt.

Um dem Ingenieur dieses Material zur Verfügung stellen zu können, mußten wir den Gaswechsel beim Kurbeldrehen bestimmen, wobei

---

[1]) *K. Sondén* und *R. Tigerstedt*, Skand. Arch. **6**, 1, 1895.
[2]) *H. Wolpert*, Arch. f. Hygiene **26**, 68.
[3]) *G. Becker* und *J. W. Hämäläinen*, Skand. Arch. **31**, 198, 1914.
[4]) *F. G. Benedict*, Veröffentl. d. Carnegie-Instituts.

die Höhe der Achse, deren Lage zum Menschen, der Widerstand und der Kurbeldurchmesser zu variieren waren.

Es dauert für jede dieser Variationen eine gewisse Zeit, bis ein bestimmtes Arbeitsquantum unter dem Minimum von Energieaufwand geleistet wird. Aber man muß für jede Bewegungsart den maximalen Übungsgrad erreicht haben, um die Ökonomie der einzelnen Variationen untereinander vergleichen zu können.

*Reach*[1]) beachtete diesen Punkt in seiner vorerwähnten Arbeit nicht. Dies führte zu der eigenartigen Konsequenz, daß er zwar bei Kurbelantrieb einen geringeren Energiebedarf feststellte als beim Antrieb der Milchzentrifuge mit der Ellipsenkurbel, und doch den Schluß ziehen mußte, daß die Ellipsenkurbel die zweckmäßigere Antriebsform darstellt. Denn während bei längerem Versuche der Energiebedarf bei der gewöhnlichen Kurbel sich dauernd fast immer auf der gleichen Höhe hält, ist er bei der Ellipsenkurbel zu Beginn des Versuches hoch, sinkt dann aber steil ab. Würde er die Respirationsversuche bei beiden Bewegungsarten im Maximum des Trainings verglichen haben, so wäre wohl der Vergleich von vornherein zugunsten der Ellipsenkurbel ausgefallen.

Die für die Variationen der einzelnen Elementararbeiten erhaltenen Zahlen sollen die Grundlage für die Anpassung des Menschen an die Maschine bilden. Nicht immer wird sich der Ingenieur nach unseren Vorschriften richten können. Wenn ein Bewegungselement relativ selten ausgeführt wird, dann wird sich der Ingenieur um so leichter entschließen, einer für den Menschen zwar ungünstigeren, dafür aber technisch einfacheren Konstruktion den Vorzug zu geben.

Der von uns eingeschlagene Weg unterscheidet sich also wesentlich von dem, welchen die Psychotechnik begeht. Diese benutzt als Indikator für die Zweckmäßigkeit einer Arbeitsform die durch psychologische Methode festgestellte Ermüdungskurve. Man könnte uns einen Vorwurf daraus machen, daß wir den Faktor der Ermüdung nicht berücksichtigen. So weist z. B. *Durig*[2]) darauf hin, „daß es eine Menge leichter Arbeit gibt, wie z. B. das Maschinenschreiben, das den Erhaltungsumsatz nur um 20 bis 50 Proz. steigert (*Benedict* und *Carpenter*), also wenig mehr erhöht als ‚ein beschäftigter Müßiggang' und dennoch zu ganz ausgesprochener Ermüdung führt". Wir sind uns wohl bewußt, daß die Höhe des Energieaufwandes in keiner direkten Beziehung zur Ermüdung steht. Sicher aber wird man die Ermüdung hinausschieben, wenn man die einzelnen Arbeitsprozesse unter optimalem Wirkungsgrad ausführen läßt.

Bei der Beurteilung des gesamten Arbeitsprozesses werden Ermüdungsuntersuchungen nicht entbehrlich sein, um die Arbeitselemente so zusammenfügen zu können, daß in einer zulässigen Arbeits-

[1]) l. c.
[2]) *Durig*, Die Ermüdung, S. 77.

zeit eine Höchstleistung vollbracht wird, ohne daß die beim Taylorsystem beobachteten Schädigungen zu befürchten sind.

*Wir haben also durch die Untersuchung der Arbeitselemente die Möglichkeit, den Arbeitsprozeß zu rationalisieren, während uns Ermüdungsstudien während und nach der Gesamtarbeit den Grad zu bestimmen gestatten, bis zu welchem die Intensivierung getrieben werden darf.*

## Experimenteller Teil.

### I. *Das Kurbeldrehen.*

#### a) Methodik.

Die Versuche über das Kurbeldrehen wurden mit dem *Benedict*schen [1]) Respirationsapparat ausgeführt. Das Prinzip dieses Apparates besteht darin, daß ein Luftstrom mittels einer Rotationspumpe durch ein geschlossenes System von Röhren getrieben wird, in das Schwefelsäureflaschen zur Absorption des Wasserdampfes der Ausatmungsluft, sowie eine Natronkalkflasche mit angeschlossener kleiner Schwefelsäureflasche zur Absorption der Kohlensäure bzw. des aus dem Natronkalk ausgetriebenen Wassers eingeschaltet sind. Der Sauerstoff strömt aus einer Bombe durch eine Gasuhr in den Kreisstrom. Läßt man nun gerade so viel Sauerstoff einströmen, daß am Ende des Versuches das gleiche Luftvolumen in dem Apparat enthalten ist wie am Anfang, so kann man an der Gasuhr unmittelbar die verbrauchte Sauerstoffmenge ablesen. Die Kohlensäure wird durch Wägen der Natronkalkflasche bestimmt.

Auf der einen Seite der Pumpe herrscht ein beträchtlicher Unterdruck, auf der anderen ein ebensolcher Überdruck. In der Mitte des Systems jedoch, an der Stelle, wo die Versuchsperson durch ein Mundstück mit dem Apparat verbunden ist, herrscht praktisch immer der Überdruck 0. Möglichst nahe am Mundstück ist als Druckausgleicher eine Gummiblase eingeschaltet. Um die Atmung zu registrieren, was für das richtige Ein- und Ausschalten des Apparates unerläßlich ist, schlägt *Benedict* vor, an Stelle der Gummiblase ein Spirometer mit Registriervorrichtung anzubringen. Wir überzeugten uns, daß es genügt, an der Gummiblase eine *Marey*sche Trommel anzuschließen, die auf einem Kymographion die Druckschwankungen in der Gummiblase schreibt.

Zwischen das Mundstück und den kreisenden Luftstrom ist ein Dreiweghahn eingeschaltet, der so gestellt werden kann, daß die Versuchsperson entweder in den Kreisstrom, oder aber nach außen atmet. Durch diese Anordnung wird jedoch ein schädlicher Raum von einer Größe, die nicht vernachlässigt werden darf, gebildet. Wir brachten daher zwischen Mundstück und Kreisstrom eine zweite engere Verbindung an, die die Luft direkt zum Munde führt und so den schädlichen Raum gewissermaßen ausspült. Eine ähnliche Anordnung hat auch *Smith* [2]) an dem *Benedict*schen Apparat angebracht.

Die Verbindung des Mundstückes mit dem eigentlichen Respirationsapparat haben wir in Abänderung des *Benedict*schen Modells, das starre Verbindungen vorsieht, aus weiten Gummischläuchen hergestellt. Der

---

[1]) *F. G. Benedict*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **107**, 156, 1912.

[2]) *Monmouth Smith*, Gaseous Exchange and Physiological Requirements for level and grade Walking. Carnegie Institution. Washington 1922.

Dreiweghahn wurde auf der Brust der Versuchsperson durch passend konstruierte Gurte befestigt. So ließ sich die Bewegung des Kurbeldrehens ohne wesentliche Behinderung ausführen.

Als Kurbelergostaten verwandten wir das *Krogh*sche Fahrradergometer[1]), dessen eines Pedal wir zu dem Zwecke durch eine Kurbel ersetzten. Das Prinzip dieses Ergometers ist folgendes: Durch das Drehen wird eine schwere Kupferscheibe, die dem Hinterrade eines Fahrrades entspricht, in Rotation versetzt. Diese bewegt sich zwischen zwei starken Elektromagneten, sie wird also durch die auftretenden Wirbelströme gebremst. Die Magnete sind in einer Wage so aufgehängt, daß sie der Bewegung der Kupferscheibe ein Stück zu folgen vermögen. Dieser Bewegungstendenz entgegen wirken Gewichte, die auf eine Schale gestellt werden, welche an dem die Magnete tragenden Rahmen befestigt ist. Die Größenverhältnisse des Apparates sind so gewählt, daß dann, wenn die Wage gerade um den Nullpunkt spielt, pro Umdrehung der Kupferscheibe $2p$ mkg Arbeit geleistet werden, wobei $p$ das auf die Wagschale gesetzte Gewicht in Kilogrammen bedeutet. Bewegt sich die Wage durch zu schnelles oder zu langsames Drehen aus dieser Gleichgewichtsstellung heraus, so wird ein Kontakt geschlossen, der bewirkt, daß der Magnetstrom so lange abgedrosselt bzw. verstärkt wird, bis das Gleichgewicht wieder hergestellt ist. Die Umdrehungen der Kupferscheibe werden automatisch registriert. Die Übersetzung ist bei unserem Modell derart, daß je 3,25 Umdrehungen der Kupferscheibe einer Umdrehung der Kurbel entsprechen.

Mit Hilfe dieser Apparatur variierten wir die Versuchsbedingungen der Kurbelarbeit. Durch Hoch- und Tiefstellen des ganzen Fahrrades änderten wir die Höhe der Kurbelachse über dem Boden, durch verschiedenes Einschrauben des Kurbelgriffes konnte der Radius geändert werden. Durch Wechsel des aufgesetzten Gewichtes waren wir in der Lage, die Arbeit pro Umdrehung der Kurbel von 6,5 bis auf 32,5 mkg zu steigern.

b) Ausführung der Versuche.

Der Kalorienverbrauch für eine bestimmte Arbeit nimmt, wie aus den Untersuchungen älterer Autoren bekannt ist, mit zunehmender Übung ab. Diese Abnahme geht jedoch nur bis zu einer gewissen Grenze, von der ab der Kalorienverbrauch praktisch konstant bleibt. Daraus ergibt sich, daß Untersuchungen über den Energieverbrauch bei einer bestimmten Arbeit unter Variation gewisser Arbeitsbedingungen nur dann durchgeführt werden sollen, wenn alle Versuche im maximalen Übungsgrade für die betreffende Arbeit ausgeführt werden. Im Anhang werden wir Gelegenheit nehmen, den Verlauf der Trainingskurve zu beschreiben.

Allen unseren Kurbelversuchen ging ein Training voraus, dessen Fortgang durch Respirationsversuche kontrolliert wurde. Zu Beginn der Untersuchungsreihe war eine Trainingsdauer von etwa 14 Tagen

[1]) *A. Krogh*, Skand. Arch. **30**, 375, 1913.

nötig. Wurde die Höhe der Kurbel über dem Boden geändert, so erforderte das ein neues Training, dessen Höhe aber meist in etwa 8 Tagen erreicht war. Wenn nur der Radius der Kurbel verändert wurde, so war die neue Trainingshöhe in der Regel schon nach wenigen Versuchen erreicht. Eine Änderung des Gewichtes, also der Anzahl Meterkilogramme äußerer Arbeit pro Umdrehung der Kurbel, beanspruchte meist keine besondere Einarbeit.

Alle Versuche wurden an der gleichen Versuchsperson (*L.*) regelmäßig in den Vormittagsstunden in der Zeit von April bis August durchgeführt. Die letzte Mahlzeit lag stets etwa 12 Stunden zurück. Da die gewonnenen Werte streng genommen individuelle Konstanten unserer Versuchsperson sind, geben wir im folgenden deren wichtigste persönliche Daten:

| | |
|---|---|
| Körpergewicht | 60,0 kg |
| Körperlänge | 171,7 cm |
| Höhe des Brustbeins über dem Boden | 141,8 ,, |
| ,, ,, Akromions ,, ,, ,, | 138,4 ,, |
| ,, der Ellbogenfuge ,, ,, ,, | 108,4 ,, |
| ,, des Handgelenks ,, ,, ,, | 83,9 ,, |
| ,, der Fingerspitze ,, ,, ,, | 64,5 ,, |
| ,, des Darmbeinstachels über dem Boden | 94,8 ,, |
| ,, der Kniegelenkfuge über dem Boden | 49,9 ,, |
| ,, des Fußknöchels ,, ,, ,, | 6,5 ,, |
| Fußlänge | 26,5 ,, |
| Brustumfang, ruhige Atmung | 83,2 ,, |
| ,, ausgeatmet | 79,5 ,, |
| ,, eingeatmet | 87,3 ,, |
| Oberarmumfang, gestreckt | 26,5 ,, |
| ,, gebeugt | 29,4 ,, |
| Unterarmumfang, größter | 26,8 ,, |
| ,, kleinster | 15,8 ,, |
| Oberschenkelumfang | 47,8 ,, |
| Unterschenkelumfang, größter | 32,0 ,, |
| ,, kleinster | 20,1 ,, |

An Hand dieser Daten wird es möglich sein, die für die einzelnen Arbeitsvariationen gefundenen Optimalwerte auch für andere Personen umzurechnen.

Vor den eigentlichen Arbeitsversuchen wurde zunächst der Ruhestoffwechsel bestimmt. Wir fanden als Durchschnitt der wenig voneinander abweichenden Versuche 1145. Für das Stehen fanden wir einen Wert von 1284 cal pro Minute, was einer Steigerung gegenüber der Ruhe um 12 Proz. entspricht. Die Versuchsdauer dieser Ruheversuche betrug stets 15 Minuten.

Dann begannen wir mit den eigentlichen Kurbelversuchen, die in der Weise ausgeführt wurden, daß die stehende Versuchsperson zunächst einige Minuten durch das Mundstück nach außen atmete, bis wir annehmen

konnten, daß die von vorhergegangenen Bewegungen stammende Kohlensäure ausgeschieden war, und bis sich die Atemmechanik der Versuchsperson vollkommen der Mundstückatmung angepaßt hatte. Darauf wurde, während die Person noch immer stillstand, der Apparat eingeschaltet. Um zu vermeiden, daß beim Beginn des Kurbelns eine größere Kraftleistung ausgeführt wurde, wurde die Kurbel nunmehr von einem Assistenten[1]) in Gang gesetzt und von der Versuchsperson erst ergriffen, wenn die richtige Geschwindigkeit erreicht war. Die Zeit, während welcher gekurbelt wurde, war je nach der Stellung und Belastung verschieden, sie wurde immer so gewählt, daß eine subjektiv merkbare Ermüdung noch nicht eintrat. Die längste Zeit waren 6, die kürzeste 1 Minute. Die Geschwindigkeit des Kurbeldrehens war bei allen Versuchen gleich (18 Umdrehungen pro Minute). Das Drehen wurde nach dem Takte eines Metronoms ausgeführt.

Bei Beendigung des Kurbelns wurde streng darauf geachtet, daß die Versuchsperson die Kurbel los ließ, ohne sie zu bremsen. Sie nahm dann bis zur Beendigung des Versuches wieder die gleiche stehende Ruhestellung ein wie vorher. Die Gesamtdauer der Versuche betrug 12 bis 13 Minuten.

Wir untersuchten den Kalorienverbrauch in vier verschiedenen Höhen der Kurbelachse: 55,3, 82,7, 114,3, 162,2 cm über dem Boden. Für jede Höhe standen uns drei verschiedene Radien zur Verfügung: 19,4, 28,4 und 36,6 cm. Jede dieser Stellungen wurde nun wieder bei fünf verschiedenen Belastungen von 1 bis 5 kg untersucht, entsprechend einer Arbeitsleistung von 6,5, 13,0, 19,5, 26,0 und 32,5 mkg pro Umdrehung der Kurbel. Im ganzen gewannen wir $4 \times 3 \times 5 = 60$ verschiedene Werte. Zu diesem Zwecke wurden 390 einzelne Respirationsversuche ausgeführt. Im Durchschnitt wurden also für jeden Wert sechs bis sieben Versuche durchgeführt. In Wirklichkeit war die Zahl der Versuche für den jeweilig ersten Wert einer neuen Höhenlage bedeutend größer, konnte dafür aber bei den Versuchen, die sich von den vorhergehenden nur durch das Gewicht unterschieden, eingeschränkt werden.

Es stellte sich bald heraus, daß der erste Versuch jedes Tages einen etwas zu hohen Wert ergab. Das steht auch im Einklang mit den Beobachtungen anderer Autoren. So wies *Durig*[2]) nach, „daß bei täglich fortgesetzten, sonst ganz gleichen Marschleistungen immer die ersten Marschleistungen am selben Tage geringer waren und mit größerem Aufwande an Energie durchgeführt wurden". Es wurde daher vor den eigentlichen Versuchen immer erst einmal ohne Gaswechselmessung gekurbelt. Im Anschluß daran konnten dann meist drei bis vier Versuche in gewissen Abständen an einem Vormittag ausgeführt werden. Mehr Versuche hintereinander durchzuführen, war nicht möglich, da sonst infolge einer Ermüdung allmählich zu hohe Werte erhalten worden wären.

Die Berechnung der Versuche wurde in folgender Weise durchgeführt: Nach Reduktion des gemessenen Sauerstoffvolumens und Umrechnung der gewogenen Kohlensäure in Kubikzentimeter wurden beide Zahlen durch die Zeitdauer des Versuches dividiert und hiervon der auf die in

---

[1]) Wir hatten uns bei den Versuchen der liebenswürdigen Unterstützung des Herrn Stabsarzt Dr. *Full* zu erfreuen, dem wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen möchten.

[2]) *Durig*, Die Ermüdung, S. 40.

der Minute stattfindende Eiweißverbrennung entfallende Teil des Sauerstoffs und der Kohlensäure abgezogen. Zugrunde gelegt wurde hierbei ein durch Harnanalysen für unsere Versuchsperson gefundener Mittelwert. Aus der restlichen Menge des Sauerstoffs und der Kohlensäure wurde nunmehr, entsprechend dem Vorgehen von *Zuntz*[1]), der korrigierte respiratorische Quotient gefunden und die Sauerstoffmenge pro Minute mit der dem respiratorischen Quotienten entsprechenden Kohlehydrat- und Fettmenge multipliziert. Nunmehr wurde als Summe der auf Eiweiß, Fett und Kohlehydrat entfallenden Kalorien der Kalorienverbrauch in der Minute errechnet.

Für die Arbeitsversuche ist noch von diesem Werte der Kalorienverbrauch in einer Minute ruhigen Stehens abzuziehen. Die Differenz wird wieder mit der Versuchsdauer multipliziert. Der erhaltene Wert stellt den gesamten Kalorienverbrauch bei der Arbeit dar, vermindert um den auf die entsprechende Zeit entfallenden Ruhestoffwechsel. Dieser Wert wurde nun noch durch die Anzahl der bei der Kurbelarbeit geleisteten Meterkilogramme geteilt.

c) Versuchsresultate.

Aus Gründen der Raumersparnis verzichten wir darauf, die zahlreichen einzelnen Respirationsversuche wiederzugeben. Wir beschränken uns auf die Mitteilung der für die einzelnen Versuchsvariationen erhaltenen Generalergebnisse, die wir zunächst in Tabelle I übersichtlich zusammenstellen. Die hier verzeichneten Werte bedeuten Grammkalorien pro 1 mkg äußere Arbeit.

*Tabelle I.*

| Höhe der Kurbelachse über dem Boden | Radius der Kurbel | Arbeit in mkg pro Umdrehung | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 6,5 | 13,0 | 19,5 | 26,0 | 32,5 |
| 55,3 | 19,4 | 20,7 | 15,8 | 16,5 | 18,7 | 23,3 |
| | 28,4 | 22,3 | 14,6 | 13,2 | 13,8 | 17,1 |
| | 36,6 | 27,8 | 16,5 | 13,8 | 14,4 | 16,5 |
| 82,7 | 19,4 | 17,8 | 14,5 | 15,5 | 17,8 | 26,0 |
| | 28,4 | 19,4 | 15,0 | 12,5 | 11,2 | 15,7 |
| | 36,6 | 26,1 | 15,5 | 13,9 | 13,5 | 14,6 |
| 114,3 | 19,4 | 14,6 | 14,1 | 18,3 | 25,1 | — |
| | 28,4 | 13,6 | 11,7 | 12,5 | 14,3 | 17,5 |
| | 36,6 | 17,0 | 13,5 | 12,4 | 12,1 | 14,2 |
| 162,2 | 19,4 | 14,5 | 17,4 | 23,5 | 28,9 | — |
| | 28,4 | 20,3 | 19,2 | 19,0 | 22,6 | 33,5 |
| | 36,6 | 22,0 | 18,4 | 18,5 | 20,5 | 22,2 |

Wie man aus der Tabelle I ersieht, beträgt unser niedrigster Wert 11,7 cal für 1 mkg Arbeit. Wir erhielten diesen Wert bei einer Höhe von 114,3 cm der Kurbelachse über dem Fußboden, einem Kurbelradius von 28,4 cm und einer Arbeit von 13 mkg pro Umdrehung

[1]) *Zuntz-Loewy*, Lehrbuch der Physiologie des Menschen. Leipzig 1920.

der Kurbel. Dieser Wert entspricht einem Wirkungsgrad von 20 Proz. Der absolut ungünstigste Wert, den wir maßen, war 33,5 cal pro Meterkilogramm bei einer Höhe von 162,2 cm über dem Boden, einem Radius von 28,4 cm und einer Arbeit von 32,5 mkg pro Umdrehung. Dieser Wert entspricht einem Wirkungsgrad von nur 7 Proz. Es übersteigt die Kräfte der Versuchsperson bei einer Belastung von 32,5 mkg pro Umdrehung mit einem Radius von 19,4 cm zu kurbeln. Wäre dies möglich gewesen, so wäre der Wirkungsgrad ebenso wie bei noch kleinerer Arbeit als 6,5 mkg pro Umdrehung noch bedeutend niedriger geworden.

Dieser kurze Überblick genügt schon, um die Bedeutung dieser Versuche für das praktische Leben zu zeigen. Gelingt es doch, durch relativ geringe Änderungen an der Versuchsanordnung den Wirkungsgrad auf das Dreifache zu steigern. Von den untersuchten Höhen ist im allgemeinen die Höhe 114,3 die günstigste, bei der Höhe 82,7 sind die Kalorienwerte für 1 mkg äußere Arbeit bereits wesentlich höher; sie sind annähernd von der gleichen Größenordnung wie die bei der Höhe 55,3 gewonnenen Werte. Sehr wesentlich höher aber liegen sie im Durchschnitt bei der Höhe 162,2 cm. Diese Betrachtung hat aber nur eine allgemein orientierende Bedeutung. Im einzelnen sind die Verhältnisse der Werte zueinander bei den einzelnen Höhen recht verschieden. In Abb. 1 sind die in der Tabelle I enthaltenen Werte in Kurvenform dargestellt. Für jede Höhenvariation sind drei den verschiedenen Kurbelradien entsprechende Kurven in das Koordinatensystem eingetragen. Auf der Abszissenachse ist die pro Umdrehung der Kurbel geleistete äußere Arbeit aufgetragen, während die zugehörigen Ordinaten den pro Meterkilogramm äußere Arbeit aufgewandten kleinen Kalorien entsprechen. Die am Radius 19,4 cm gewonnene Kurve ist strichpunktiert, die zum mittleren Radius gehörige Kurve ist gestrichelt und die zum größten Durchmesser gehörige ausgezogen gezeichnet. Bei allen Höhen sehen wir, daß die Kurve für den größten Radius am höchsten beginnt, dann abfällt, bei 19,5 oder 26 mkg pro Umdrehung ein Minimum erreicht, um dann langsam wieder anzusteigen. Die Kurven für den Radius 28,4 beginnen etwas niedriger, zeigen das Minimum bei einer etwas kleineren Belastung und steigen dann schneller an, so daß die Werte für die Arbeit von 32,5 mkg meist beträchtlich über denen des großen Radius liegen. Noch deutlicher tritt dieser Unterschied bei dem kleinen Radius von 19,4 in Erscheinung. Der Beginn ist noch niedriger, das Minimum liegt bei einer kleineren Arbeit, dann aber steigt die Kurve steiler als die beiden anderen an. Bei der Höhe 162,2 liegt das Minimum unter 6,5 mkg und ist auf der Kurve nicht mehr enthalten. Aus den Kurven wollen wir zunächst nur die eine Folgerung ziehen, daß man nur dann einen

geringen Kurbeldurchmesser wählen soll, wenn die verlangte äußere Arbeit niedrig ist.

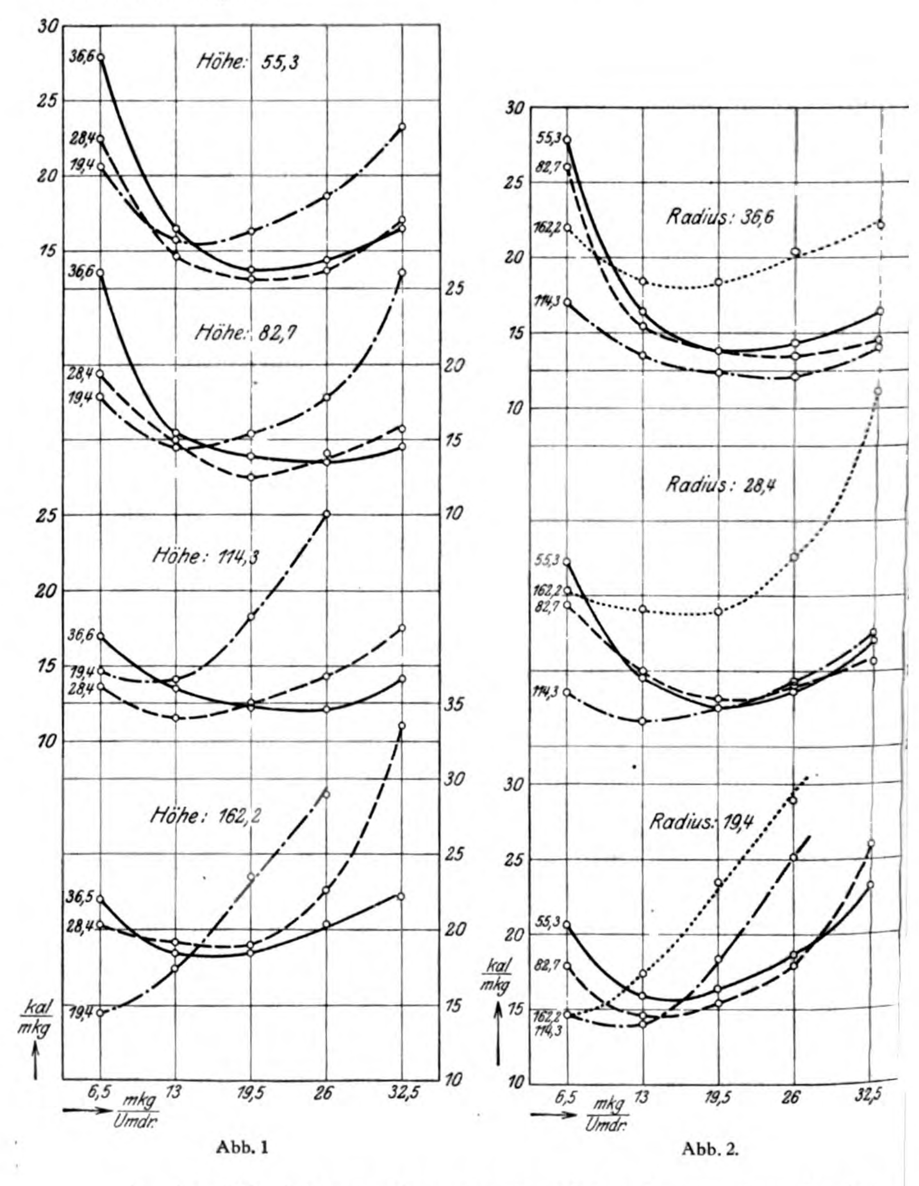



Abb. 1 Abb. 2.

Aus der Abb. 2 ist zu erkennen, wie sich bei den einzelnen Radien die den verschiedenen Höhen entsprechenden Kurven zueinander verhalten. Die Kurven sind ebenso zu lesen wie diejenigen der Abb. 1.

Nur sind hier in die drei untereinander liegenden Koordinatensysteme für jeden Radius die den verschiedenen Höhen entsprechenden Kurvenscharen eingezeichnet. Bei dem Radius 19,4 verschiebt sich das Minimum mit zunehmender Höhe bedeutend nach links, also nach den kleineren Belastungen. Beim Radius 28,4 ist das viel weniger ausgesprochen. Hier laufen die Kurven der Höhen 114,3 und 162,2 fast parallel, nur liegt die von 162,2 wesentlich höher. Die Kurven von 55,3 und 82,7 decken sich hier fast. Bei dem großen Radius 36,6 ist die Linksverschiebung des Minimums mit der Höhe nur noch schwach angedeutet. Auch hier decken sich die Kurven 55,3 und 82,7 ungefähr, und die beiden anderen sind annähernd parallel. Jedoch besteht gegen die zum Radius 28,4 gehörige Kurvenschar der Unterschied, daß die einzelnen Kurven hier wesentlich näher zusammenliegen.

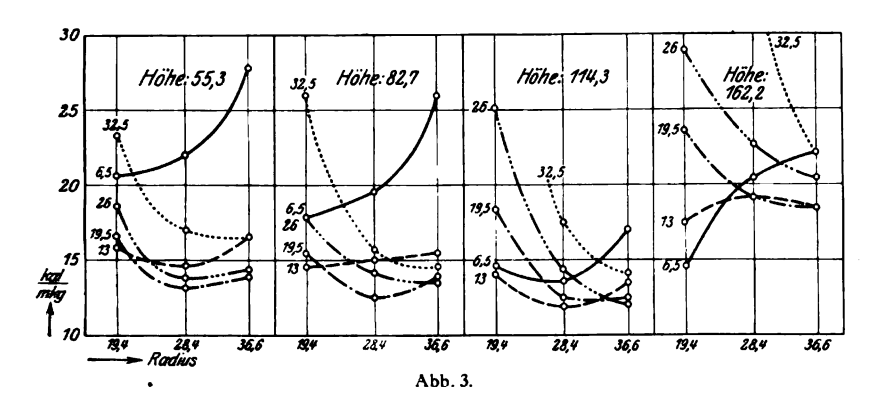



Abb. 3.

Um die Beziehungen zwischen Größe des Radius und Belastung bei den verschiedenen Höhen zu illustrieren, haben wir die Kurven der Abb. 3 in der Weise gezeichnet, daß als Abszissen die Radien, als Ordinaten wieder der Kalorienverbrauch pro Meterkilogramm äußere Arbeit gezeichnet sind. Jede Kurvenschar bezieht sich auf eine bestimmte Höhe. Jede einzelne Kurve gilt für eine bestimmte äußere Arbeit, ausgedrückt in Meterkilogrammen pro Umdrehung. Bei der Höhe 55,3 verlaufen alle Kurven konvex gegen die Abszissenachse. Der tiefste Punkt liegt bei der Arbeit 6,5 mkg pro Umdrehung links außerhalb der Kurve, rückt aber bei 13 mkg bereits auf die Kurve und bei steigender Belastung immer weiter nach rechts.

Bei der Höhe 82,7 verläuft die Kurve für 6,5 mkg Arbeit so, daß das Optimum des Radius links außerhalb der Kurve liegen würde. Bei 13 mkg liegt das Optimum ebenfalls noch links außerhalb der Kurve. Die Kurve verläuft aber hier in dem untersuchten Teile praktisch geradlinig. Die Kurven für 19,5, 26,0 und 32,5 mkg verlaufen konvex

gegen die Abszissenachse. Das Optimum liegt bei der Belastung 19.5 bei Radius 28,4, bei der Belastung 26,0 rechts außerhalb, bei der Belastung 32,5 noch weiter rechts außerhalb der Kurve.

Bei der Höhe 114,3 verlaufen die Kurven ebenfalls konvex zur Abszissenachse. Das Optimum verschiebt sich ebenfalls mit steigender Arbeit pro Umdrehung nach rechts und liegt bei 26,0 und 32,5 mkg ebenfalls wieder außerhalb der Kurve. Noch stärker ist diese Verschiebung bei der Höhe 162,2, wo das Optimum bei 6,5 weit, bei 13,0 weniger weit links außerhalb, bei 19,5 auf der Kurve, bei 26,0 und 32,5 wieder rechts außerhalb der Kurve liegt. Für alle Höhenvariationen ergibt sich also die Gesetzmäßigkeit, daß der jeweils günstigste Radius um so größer ist, je stärker die Kurbel belastet ist. Bei „unbequemer“,

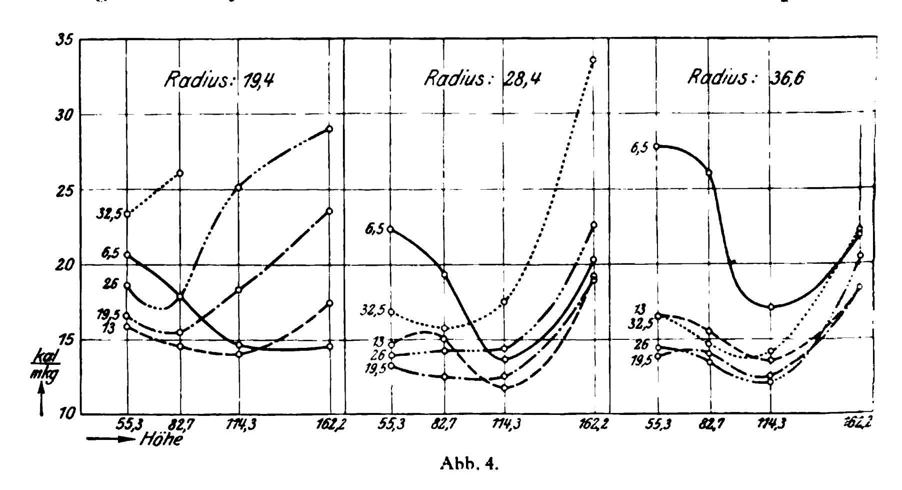



Abb. 4.

d. h. sehr großer oder sehr niedriger Höhe der Kurbelachse ist das deutlicher ausgesprochen als bei einer „bequemeren“ Höhe.

Die Kurven der Abb. 4 endlich sind so gewonnen, daß als Abszissen die Höhen, als Ordinaten die Kalorienwerte pro Meterkilogramm äußere Arbeit eingetragen sind. Die für jeden Radius erhaltene Kurvenschar entspricht den einzelnen Belastungen. Sehen wir zunächst überall von der kleinsten Höhe 55.3 ab, so bieten die Kurven ein sehr gleichmäßiges Bild. Die optimale Höhe ist fast überall 114,3. Jedoch liegt das Optimum (namentlich bei Radius 28,4 gut zu erkennen) bei der größeren Arbeit pro Umdrehung etwas weiter links, also niedriger als bei kleinerer Arbeit.

Bei der Höhe 55,3 cm liegen die Werte zwar meist etwas höher als bei 82,7 cm, jedoch nicht so viel, wie man bei völlig regelmäßigem Kurvenverlauf erwarten sollte.

d) Praktische Ergebnisse.

Die Untersuchungen sollen vor allem praktischen Zwecken dienen. In der Praxis lautet nun die Fragestellung entweder: Welche Höhe, Radius und Belastung sind die günstigsten? Diese Frage haben wir bereits beantwortet. Für unsere Versuchsperson ist es die Höhe 114,3; Radius 28,4 und Arbeit 13,0 mkg pro Umdrehung. Meist aber wird die Fragestellung etwas anders sein. Es ist z. B. die Höhe der Kurbel gegeben, dann lautet die Frage: Welches ist der günstigste Radius und die günstigste Belastung? Oder es ist umgekehrt der Radius oder die Belastung gegeben, aber die Höhe ist zu variieren usw. Um nun in jedem Falle sofort sehen zu können, wie bei den gegebenen Arbeitsbedingungen die Variablen so eingerichtet werden können, daß unter den denkbar günstigsten Bedingungen gearbeitet wird, geben wir im folgenden drei Tabellen, aus denen die Lage der verschiedenen Optima zu ersehen ist.

*Tabelle II.*

Optimale Belastung, ausgedrückt in Meterkilogrammen Arbeit pro Kurbelumdrehung.

| Höhe über dem Boden | Radius 19,4 | Radius 28,4 | Radius 36,6 |
|---|---|---|---|
| 55,3 | **15,0**<br>(15,5) | **20,0**<br>(13,2) | **21,1**<br>(13,6) |
| 82,7 | **14,3**<br>(14,3) | **19,5**<br>(12,5) | **24,4**<br>(13,4) |
| 114,3 | **10,4**<br>(13,8) | **14,3**<br>(11,6) | **23,2**<br>(12,0) |
| 162,2 | **4,0**<br>(14,0) | **16,3**<br>(18,8) | **16,2**<br>(18,3) |

In dieser Tabelle II ist für jeden Radius und jede Höhe der günstigste Wert der Arbeit in Meterkilogrammen pro Umdrehung angegeben. Wir sehen an diesen (fettgedruckten Zahlen), daß mit dem Radius die optimale Belastung ansteigt, daß sie mit der Höhe dagegen im allgemeinen sinkt. Die Zahlen wurden gewonnen durch Ablesen aus den oben wiedergegebenen Kurven. Die angegebenen Belastungen sind also nicht wirklich untersucht, sondern durch Inter- bzw. Extrapolation gewonnen.

Unter den fettgedruckten Zahlen der optimalen Arbeit pro Umdrehung sind die entsprechenden Kalorienwerte pro 1 mkg äußere Arbeit in Klammern beigefügt. Der niedrigste Wert von 11,6, das absolute Optimum, liegt beim Radius 28,4 und der Höhe 114,3. Wie man sieht, steigen die Kalorienwerte von diesem besten Werte ab gerechnet nach allen Seiten hin an.

*Tabelle III.*

Optimale Höhe des Kurbelmittelpunktes über dem Boden in Zentimetern.

| Arbeit in mkg pro Umdrehung | Radius 19,4 | Radius 28,4 | Radius 36,6 |
|---|---|---|---|
| 6,5 | **140** (14,3) | **115** (13,6) | **120** (17,0) |
| 13,0 | **110** (14,2) | **115** (11,7) | **110** (13,5) |
| 19,5 | **80** (15,5) | **100** (12,5) | **110** (12,5) |
| 26,0 | **70** (17,0) | **90** (14,3) | **100** (12,1) |
| 32,5 | **50** (?) | **80** (15,7) | **100** (14,0) |

Die Tabelle III ist ebenso zu lesen wie die vorhergehende Tabelle II. Wir sehen, was sich auch bei den Kurven schon gezeigt hatte, daß die optimale Höhe bei größerem Radius relativ geringen Schwankungen unterworfen ist. Je kleiner aber der Radius, oder je größer im Vergleich zum Radius die Belastung wird, desto größer werden die Unterschiede der optimalen Höhen. Beim Radius 36,6 schwankt die optimale Höhe nur zwischen 120 und 100 [illegible]n Radius 19,4 dagegen zwischen 140 und 50. Je größer die Belastung, desto niedriger ist die optimale Höhe, oder, wenn wir die Beziehungen zum Radius mit zum Ausdruck bringen wollen, je größer die auf der Längeneinheit (Kurbelperipherie) geleistete Arbeit, desto niedriger ist die optimale Höhe.

*Tabelle IV.*

Optimaler Radius.

| Höhe | Arbeit in mkg pro Umdrehung 6,5 | 13,0 | 19,5 | 26,0 | 32,5 |
|---|---|---|---|---|---|
| 55,3 | **19** (20,5) | **26** (14,5) | **28** (13,2) | **31** (13,5) | **35** (16,5) |
| 82,7 | **15** (14,0) | **19** (14,0) | **28** (12,5) | **37** (13,0) | **40** (14,6) |
| 114,3 | **25** (13,5) | **28** (11,7) | **34** (12,2) | **40** (12,0) | **45** (13,0) |
| 162,2 | **10** (?) | **15** (17) | **32** (18) | **45** (21) | **60** (?) |

Aus der Tabelle IV sehen wir wieder die uns schon bekannte Tatsache, daß mit steigender Belastung der günstigste Radius wächst. Bis zu der Höhe von 114,3 wächst der günstigste Radius auch mit steigender Höhe ein wenig, bei der Höhe von 162,2 ist der günstigste Radius dagegen wieder kleiner.

### e) Besprechung der Versuchsergebnisse.

Bis jetzt haben wir nur die Tatsachen registriert, wir wollen jetzt versuchen, hierfür eine Erklärung zu finden. Zu suchen ist diese Erklärung einerseits in den von früheren Arbeiten her bekannten Grundsätzen der menschlichen Arbeit bei wachsender Belastung, andererseits in der Art, wie sich der Körper unter den einzelnen Bedingungen bewegt. Wir haben zu diesem Zwecke die wichtigsten der vorliegenden Variationen kinematographiert. In den nebenstehenden Abb. 5 und 6 geben wir einige typische Stellen dieser Filmstreifen[1]) wieder. Die Aufnahmen wurden am nackten Körper vorgenommen, so daß, — am projizierten Originalfilm wenigstens, in den kleinen Abbildungen tritt das naturgemäß weniger hervor —, das Muskelspiel und die Beteiligung der einzelnen Muskelgruppen an der Bewegung gut zu beobachten sind. Wir wollen versuchen, die einzelnen bei der Betrachtung unserer Tabellen über die absoluten Werte und über die Optima gewonnenen Erkenntnisse auf diesem Wege zu deuten.

1. Für jede Zusammenstellung von Höhe und Radius fällt der Kalorienverbrauch für 1 mkg äußere Arbeit zunächst bis auf ein Minimum, um dann wieder zu steigen (s. Abb. 1).

Nach *Johansson*[2]) und anderen Autoren ist der Energieverbrauch pro Meterkilogramm äußere Arbeit nach Abzug der Leerbewegung für jedes Individuum eine Konstante. Bei unseren Zahlen ist die Leerbewegung nicht abgezogen.

Legen wir diese Regel unseren Betrachtungen zugrunde, so ist das anfängliche Abfallen unserer Kurve damit erklärt, daß mit steigender äußerer Arbeit der Anteil des Energiekonsums der Leerbewegung an dem gesamten Energiewechsel geringer wird. Nun sehen wir aber an den Kurven der Abb. 1, daß der Kalorienverbrauch nach dem Passieren eines Minimums wieder ansteigt.

Das scheint zunächst mit dem *Johansson*schen Satz in Widerspruch zu stehen. In Wirklichkeit besitzt aber dieses Gesetz nur innerhalb gewisser Grenzen Gültigkeit, die wir bei unserer Kurbelarbeit wesentlich überschreiten. Die Grundannahme ist ja, daß sich die Leerbewegung bei verschiedener Belastung nicht ändert. Daß das aber bei uns in hohem Maße der Fall ist, zeigt ein Blick auf unsere Kinobilder bei großer und kleiner Belastung unter im übrigen gleichen Bedingungen.

Immerhin muß die genannte Regel für einen Teil unserer Werte zutreffen. Das wird nicht der Fall sein bei den kleinen Radien, wo das Optimum bereits bei niedriger Belastung liegt. Dagegen ist zu

---

[1]) Jedes siebente Bildchen ist wiedergegeben.

[2]) *J. E. Johansson* und *G. Koraen*, Skand. Arch. f. Phys. **14**, 60, 1903.



Abb. 5.



Abb. 6.

erwarten, daß sich bei dem großen Radius der Energiewert der Leerbewegung zwischen der Belastung 6,5, 13,0 und eventuell 19,5 nicht sehr geändert hat. Bei 1/6,5 Kurbelumdrehung leistet man an unserem Ergostaten 1 mkg äußere Arbeit, wenn die Wagschale mit 1 kg belastet ist. Bezeichnen wir mit $L$ den Energiewert der Leerbewegung von 1/6,5 Kurbelumdrehung, so muß für den Kalorienverbrauch pro 1 mkg äußere Arbeit bei der Arbeit 6,5 mkg pro Umdrehung ($A$) die Gleichung gelten:

$$A = L + K, \tag{1}$$

wobei $K$ die oben erwähnte Konstante ist. Für die Arbeit 13,0 mkg pro Umdrehung ($B$) gilt dann entsprechend, da auf 1 mkg Arbeit nur die Hälfte der Leerbewegung von oben entfällt:

$$B = \tfrac{1}{2} L + K. \tag{2}$$

Entsprechend gilt für C, den Energieverbrauch pro Meterkilogramm bei 19,5 mkg pro Umdrehung:

$$C = \tfrac{1}{3} L + K. \tag{3}$$

Für größere Belastungen dürfte das Gesetz unter keinen Umständen mehr zutreffen. Unter der Annahme, daß die obige Regel für die geringen Belastungen bei dem Radius von 36,6 cm Gültigkeit besitzt, müssen wir, wenn wir jeweils aus (1) und (2) und aus (2) und (3) $L$ und $K$ berechnen, übereinstimmende Werte erhalten. Diese sind:

*Tabelle V.*

| | | Höhe | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 55,3 | 82,7 | 114,3 | 162,2 |
| Aus 1 und 2 . . | $L$ | 22,6 | 21,2 | 7,0 | 7,2 |
| | $K$ | 5,5 | 4,9 | 10,0 | 14,8 |
| „ 2 „ 3 . . | $L$ | 16,2 | 9,6 | 6,6 | ? |
| | $K$ | 8,4 | 10,7 | 10,2 | ? |

Es zeigt sich, daß unsere Annahme gut zutrifft für die Höhe 114,3. Für alle anderen Höhen weichen die Werte beträchtlich voneinander ab. Das dürfte kein Zufall sein, sondern erklärt sich daraus, daß eben die Höhe 114,3 überhaupt von allen untersuchten die günstigste ist. Daher ist auch hier zwischen den Leerbewegungen bei verschiedener Belastung der geringste Unterschied. Trotzdem hat die Annahme eine gewisse Berechtigung, daß wenigstens zwischen den beiden kleinsten Belastungen sich die Leerbewegung nicht ändert, und daß wir auch bei den anderen Radien, wenn wir immer nur aus (1) und (2) den Wert von $L$ und $K$ ausrechnen, lehrreiche Zahlen erhalten. Diese sind:

*Tabelle VI.*

| Radius | Höhe 55,3 | | 82,7 | | 114,3 | | 162,2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | L | K | L | K | L | K | L | K |
| 36,6 | 22,6 | 5,5 | 21,2 | 4,9 | 7,0 | 10,0 | 7,2 | 14,8 |
| 28,4 | 15,4 | 6,9 | 19,0 | 5,5 | 3,8 | 9,8 | 2,2 | 18,1 |
| 19,4 | 9,8 | 10,9 | 6,6 | 11,2 | 1,0 ? | 13,6 ? | ? | ? |

Durchaus charakteristisch ist an diesen Zahlen das Sinken des Energiewertes der Leerbewegung mit dem Kleinerwerden des Radius, das sich bei allen Höhen wiederfindet, ebenso das Steigen der Konstante $K$ mit abnehmendem Radius. Weiter ist leicht erklärlich, daß die Leerbewegung bei der Höhe 114,3 kleiner ist als bei den niedrigen Höhen, wo ein Beugen des Körpers notwendig ist. Bei der großen Höhe von 162,2 ist dagegen die absolute Höhe der Kalorienwerte pro Meterkilogramm Arbeit nicht wie bei den niedrigen Stellungen durch eine Zunahme von $L$, sondern durch ein Größerwerden von $K$ zu erklären. Weitere Schlüsse aus diesen Zahlen zu ziehen, erscheint uns nicht berechtigt, da ihre Sicherheit infolge der nur beschränkt richtigen Annahme, daß die Leerbewegung bei der Arbeit 6,5 und 13,0 die gleiche ist, zu gering ist.

Daß die Leerbewegung für größere Belastungen eine andere wird, hatten wir aus der Betrachtung der Abbildungen ersehen. Ob aber die ganze Steigerung der Kalorienwerte pro Meterkilogramm Arbeit nur auf ein Größerwerden des Energiewertes der Leerbewegung zurückzuführen ist, oder ob daneben bei steigender Belastung auch die Konstante $K$ wächst, können wir aus unseren Untersuchungen nicht ersehen. Es ist aber anzunehmen, daß das der Fall ist, da der Wert für $L$, wenn wir $K$ als konstant annehmen, bei den großen Belastungen oft ein Vielfaches des Anfangswertes sein müßte. Ein derartig starkes Ansteigen ist aber kaum wahrscheinlich.

2. Die optimale Belastung steigt mit der Länge des Kurbelradius.

Proportional dem Radius steigt der Weg, welchen die die Kurbel führende Hand zurückzulegen hat. Machen wir einmal die sehr wahrscheinliche Annahme, daß es eine optimale Arbeit pro Längeneinheit der zurückgelegten Kurbelperipheriestrecke gibt, so müßte die optimale Belastung direkt proportional dem Radius der Kurbel steigen. Auf Abb. 7 sind als Ordinaten die günstigsten Radien (vgl. Tabelle III) aufgetragen, als Abszissen die jeweils zugehörige Arbeit in Meterkilogrammen pro Umdrehung. Die Kurven verlaufen in erster Annäherung geradlinig, entsprechen also unseren Erwartungen. Eine völlige Geradlinigkeit ist nicht zu erwarten, da mit wachsendem Radius sich ja nicht nur die Arbeitsleistung pro Längeneinheit des Kurbelkreises ändert,

sondern auch eine umfangreichere Leerbewegung nötig wird. Darauf ist es wohl zurückzuführen, daß die der Höhe 114,3 entsprechende Kurve sich einer geraden Linie am meisten nähert. Bei dieser Höhe wird die größere Leerbewegung nur mit den Armen ausgeführt, während bei den anderen Höhen hierzu ein Beugen des Oberkörpers oder ein Heben auf die Zehen nötig wird. Der steilere Anstieg der Kurven zwischen der Arbeit 13,0 und 19,5 mkg pro Umdrehung ist darauf

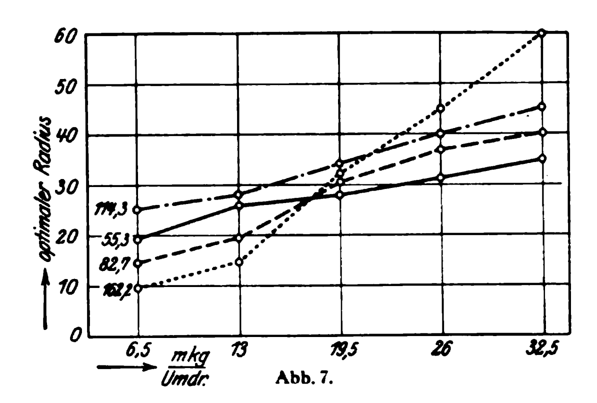


Abb. 7.

zurückzuführen, daß von hier ab das Gewicht des Oberkörpers beim Kurbeln Verwendung findet, sei es, daß sich der Oberkörper bei der Abwärtsbewegung der Kurbel gewissermaßen auf diese legt, sei es, daß er sich bei großer Höhe daran hängt. Weiterhin ist der Kurvenanstieg wieder flach, da sich an dieser Bewegung mit steigender Belastung nun nichts mehr ändert.

Die Tabelle VII gibt, nach Tabelle IV berechnet, die optimale Arbeit (in Meterkilogrammen) pro Längeneinheit der Kurbelperipherie (in Metern) bei den verschiedenen Höhen und Belastungen.

*Tabelle VII.*

Optimale Arbeit (mkg) pro 1 m Kurbelperipherie.

| Höhe | Arbeit in mkg pro Umdrehung | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 6,5 | 13,0 | 19,5 | 26,0 | 32,5 |
| 55,3 | 7 | 8 | 11 | 13 | 15 |
| 82,7 | 7 | 11 | 11 | 11 | 13 |
| 114,3 | 4 | 7 | 9 | 10 | 11 |
| 162,2 | 10 | 14 | 10 | 9 ? | 9 ? |

Wie zu erwarten war, schwanken die Werte relativ wenig, sie liegen im Durchschnitt bei 11, d. h. es wird dann am ökonomischsten gearbeitet, wenn auf einer Peripheriestrecke von 1 m 11 mkg geleistet

werden. Bei kleiner Belastung (kleiner optimaler Radius) ist die optimale Arbeit pro Meter Kurbelperipherie kleiner. Da wir aber die Versuche so eingerichtet hatten, daß die Zahl der Umdrehungen in der Minute immer die gleiche war, so folgt daraus, daß 1 m Peripherie bei größerem Radius in kürzerer Zeit geleistet werden als bei kleinerem Radius, oder mit anderen Worten, daß die optimale Arbeitsleistung pro Wegstrecke mit der Geschwindigkeit wächst.

3. Mit zunehmender Höhe sinkt die optimale Belastung.

Die unter Punkt 2. behandelte Frage, warum mit steigendem Radius die optimale Belastung zunimmt, war durch eine einfache physikalische Betrachtung zu erklären. Bei der jetzt behandelten Frage liegen die Verhältnisse komplizierter. Die Erklärung dieser Erscheinung möchten wir in rein physiologisch-anatomischen Momenten suchen. Wir glauben sie an Hand der Filmaufnahmen darin gefunden zu haben, daß bei der Höhe 114,3 fast nur die Armmuskulatur zum Kurbeln verwendet werden kann, während es bei den niedrigeren Stellungen möglich ist, bei der Bewegung der Kurbel nach unten das Gewicht des Oberkörpers auszunutzen. Allerdings muß der Oberkörper auch wieder gestreckt werden, daher erklärt es sich, daß die Werte für die Höhen 82,7 und 55,3 absolut höher liegen (Tabelle I) als bei der Höhe 114,3. Die Masse der auf die Kurbel arbeitenden Muskulatur ist aber bei den niedrigen Stellungen größer als im zweiten Falle, daher verschiebt sich das Optimum nach der Seite der größeren Belastung. Bei der großen Höhe 162,2 wird zwar auch das Körpergewicht durch Hängen an der Kurbel ausgenutzt. Anscheinend ist aber das hier bei großen Belastungen nötige Hochstemmen der Kurbel eine Bewegung, die zum Teil mit der Arm-, zum Teil mit der Beinmuskulatur ausgeführt wird, eine sehr unökonomische Bewegung, so daß gerade mit den kleineren Belastungen die besseren Resultate erzielt werden. Wir möchten in diesem Zusammenhange nochmals darauf hinweisen, daß wir für diese hohe Stellung einen sehr niedrigen Wert für die Leerbewegung und eine sehr hohe Konstante $K$ gefunden hatten. Das besagt ja aber nichts anderes, als daß die Bewegung ohne Belastung bei dieser Höhe sehr geringe Energie erfordert, ein Steigen der Belastung sich aber sehr stark bemerkbar macht.

4. Die optimale Höhe schwankt für alle Radien und mittleren Belastungen sehr wenig, ist aber bei großen Belastungen niedriger als bei kleinen. Mit wachsendem Radius steigt die optimale Höhe.

Die Erklärung liegt in der Tatsache, daß jedes Beugen und Aufrichten des Körpers, ebenso wie jedes Erheben auf die Zehen, eine beträchtliche Mehrleistung bedeutet. Die zweite Beobachtung wurde unter 3. bereits erklärt, auch daß die optimale Höhe mit zunehmendem

Radius meist etwas höher wird, läßt sich daraus erklären, daß es ein größerer Radius auch bei einer Höhe, bei der mit kleinem Radius das Körpergewicht nicht mehr ausgenutzt werden kann, unter Umständen noch ermöglicht, durch das Gewicht des Körpers die Kurbelarbeit zu unterstützen.

## *II. Anhang.*

### *Die Arbeit des Gewichthebens.*

#### a) Methodik.

Die Versuche dieses Abschnittes wurden in dem nach dem *Pettenkofer*schen Prinzip konstruierten *Rubner*schen Respirationsapparat vorgenommen. Auf eine Beschreibung dieses Apparates dürfen wir wohl verzichten, besonders da *Wolpert*[1]) über das von uns benutzte Modell genaue Angaben gemacht hat. Für das Problem des Gewichthebens schienen uns Kammeruntersuchungen besonders aus dem Grunde wünschenswert, weil in dem geräumigen Respirationsraume (die Ausmaße betrugen 2,5 × 1,5 × 2 m) kein Mundstück mit störenden Schlauchansätzen nötig ist, das den besonders im Trainingsmaximum fein abgestuften Bewegungsvorgang stören könnte. Dafür mußten wir allerdings den Nachteil in Kauf nehmen, daß infolge der schwachen Bauart der Kammer nur mit relativ leichten Gewichten gearbeitet werden konnte. Wir können also vorderhand noch nicht so umfassende Angaben machen wie für die Arbeit des Kurbeldrehens.

Zur Ermittlung der gesamten Kohlensäureproduktion aus den Teilstromanalysen hatte *Pettenkofer* eine annähernde Berechnungsmethode angegeben, die zwar bei genügend langer Versuchsdauer allen Ansprüchen auf Genauigkeit gerecht wurde, der aber bei kürzerer Versuchsdauer und langsamer Ventilation ein rasch anwachsender Fehler anhaftet. Wir bedienten uns deshalb der genauen, von *Jacoby*[2]) für den Pettenkoferapparat aufgestellten Formel, die wir für unsere Zwecke in einigen Einzelheiten abänderten. Die Formel von *Jacoby* lautet:

$$k_a = k_k \frac{e^{qt} - 1}{qt \cdot e^{qt}} + \left(k_e + \frac{mK}{V}\right)\left(1 - \frac{e^{qt} - 1}{qt \cdot e^{qt}}\right).$$

Hierbei bedeuten:

$k_a$ = Kohlensäuregehalt der austretenden Luft pro Liter;
$k_e$ = Kohlensäuregehalt der eintretenden Luft pro Liter;
$k_k$ = Kohlensäuregehalt der Kammerluft zu Beginn des Versuches;
$t$ = Zeit in Stunden;
$m$ = Zahl der $CO_2$-Quellen;
$K$ = Kohlensäureabgabe pro Stunde;
$V$ = ausventilierte Luft pro Stunde;
$E$ = Rauminhalt der Respirationskammer;
$q$ = $V/E$;
$e$ = Basis der natürlichen Logarithmen.

---

[1]) *H. Wolpert*, l. c.

[2]) *A. Jacoby*, Zeitschr. f. Biol. **14**, 1, 1878.

Setzen wir in der Formel von *Jacoby* $k_k = k_e$, ferner $m = 1$, und lösen die Formel nach $K$ auf, so erhalten wir:

$$K = V \frac{k_a - k_e}{1 - \frac{e^{qt} - 1}{qt\, e^{qt}}}$$

Diese Formel läßt sich noch vereinfachen, indem wir $t = 1$ setzen und $V$ und $K$ auf die ganze Versuchsdauer anstatt auf eine Stunde beziehen; wir verstehen also unter $V$ die Gesamtventilation und unter $K$ die Gesamtkohlensäureabgabe eines Versuches. Unsere Formel gewinnt dann die einfache Gestalt:

$$K = V (k_a - k\ ) \cdot \frac{1}{1 - \frac{e^q - 1}{q\, e^q}}$$

Nach dieser Fo.mel sind alle Versuche berechnet worden. Das *Pettenkofer*sche Prinzip gestattet keine genaue Bestimmung des respiratorischen Quotienten. Es ist zwar in Vorschlag gebracht worden, den Sauerstoffverbrauch aus der abgegebenen Kohlensäure und Wassermenge, sowie aus der Veränderung des Körpergewichtes zu berechnen. Die Werte, welche man dabei erhält, sind aber aus naheliegenden Gründen so unbefriedigend, daß wir auf eine Ermittlung des respiratorischen Quotienten verzichteten. Wir waren deshalb genötigt, einen Mittelwert, 11 Cal. für 1 g Kohlenstoff, anzunehmen, wie er auch schon von *Rubner*[1]) benutzt wurde. Daraus berechnete sich ein Standardwert von 3 Cal für 1 g abgegebener Kohlensäure.

Für die Arbeitsversuche wurde ein besonderer Apparat konstruiert. Die Arbeit sollte nur in Heben, nicht in Heben und Senken verschieden schwerer Gewichte bestehen. Da sich nur die Versuchsperson in der Kammer aufhalten durfte, so mußte eine Vorrichtung ersonnen werden, die eine selbsttätige Rückkehr des gehobenen Gewichtes in die Ausgangslage ermöglichte. Dies erreichten wir dadurch, daß wir als Gewichte Kugeln verwendeten. Der Arbeitsapparat selbst bestand aus zwei Schalen und zwei Laufbahnen, die winklig übereinander gesetzt waren. Die Schalen und Laufbahnen waren untereinander durch Scharniere gelenkig verbunden. Dadurch konnte die Hubhöhe in beliebiger Weise verändert werden. Durch Höher- oder Tieferstellen des ganzen Apparates konnte die Anfangshöhe, von welcher aus das Gewicht emporgehoben wurde, variiert werden. Die Arbeit erfolgte dann in der Art, daß die Kugel aus der unteren Schale emporgehoben, auf die schräg eingesetzte Vorderwand der oberen Schale aufgesetzt und losgelassen wurde. Von hier rollte die Kugel über die beiden Laufbahnen in die untere Schale zurück. Der ganze Arbeitsvorgang bestand also darin, das Gewicht zu ergreifen, zu heben und wieder fallen zu lassen. Diese Bewegungen wurden im Verlauf einer Arbeitsstunde 600mal durchgeführt.

Die Dauer jedes einzelnen Respirationsversuches betrug 4 Stunden. Die Arbeitsversuche wurden so geregelt, daß sofort nach dem Betreten der Respirationskammer die Arbeit aufgenommen und 1 Stunde lang durchgeführt wurde. Dann legte sich die Versuchsperson 1 Stunde auf

---

[1]) *M. Rubner*, Beiträge zur Ernährung im Knabenalter, S. 61. Berlin 1902.

ein Ruhebett, wobei auf absolute Muskelruhe geachtet wurde. Sodann wurde wieder 1 Stunde gearbeitet und dann anschließend bis zum Ende des Versuches geruht.

Die wichtigsten anthropometrischen Daten der Versuchsperson (*H.*) betragen:

| | |
|---|---|
| Körpergewicht | 61,5 kg |
| Körperlänge | 176,0 cm |
| Höhe des Brustbeins über dem Boden | 146,3 ,, |
| ,, ,, Akromions ,, ,, ,, | 145,1 ,, |
| ,, der Ellbogenfuge ,, ,, ,, | 110,0 ,, |
| ,, des Handgelenks ,, ,, ,, | 84,5 ,, |
| ,, der Fingerspitze ,, ,, ,, | 65,5 ,, |
| ,, des Darmbeinstachels über dem Boden | 102,9 ,, |
| ,, der Kniegelenkfuge über dem Boden | 52,8 ,, |
| ,, des Fußknöchels ,, ,, ,, | 7,2 ,, |
| Fußlänge | 27,5 ,, |
| Brustumfang, ruhige Atmung | 85,0 ,, |
| ,, ausgeatmet | 81,9 ,, |
| ,, eingeatmet | 89,3 ,, |
| Oberarmumfang, gestreckt | 24,5 ,, |
| ,, gebeugt | 26,7 ,, |
| Unterarmumfang, größter | 23,3 ,, |
| ,, kleinster | 15,2 ,, |
| Oberschenkelumfang | 46,5 ,, |
| Unterschenkelumfang, größter | 31,7 ,, |
| ,, kleinster | 19,9 ,, |

Die Versuche wurden auch hier nüchtern 13 bis 14 Stunden nach der letzten Mahlzeit vorgenommen.

### b) Ergebnisse.

#### 1. Das Training.

Bevor wir mit den Arbeitsversuchen begannen, führten wir einige Ruheversuche im Liegen durch. Wir fanden bei der Versuchsperson *H.* im Mittel unserer Versuche einen Ruhestoffwechsel von 21,952 g $CO_2$ pro Körpergewicht und Stunde Das entspricht einem Erhaltungsumsatz von 1,101 Cal pro Kilogramm Körpergewicht und Stunde. Diese Zahl steht in befriedigender Übereinstimmung mit den von anderen Autoren gefundenen Werten. *R. Tigerstedt*[1]) hatte einen Umsatz von 1 Cal für den fastenden, ruhenden, erwachsenen Menschen gefunden, während er aus den Angaben *A. Loewys* und *A. Durigs* einen solchen von 1,089 bzw. 0,991 berechnete.

Wir haben schon oben darauf hingewiesen, daß es für unsere Fragestellung von wesentlicher Bedeutung ist, daß der Energieaufwand, für jede Arbeitsvariation im Stadium der maximalen Übung bestimmt wird. Nur dann kann man Vergleiche ziehen. Wir setzten also auch hier jede Variation der Arbeit des Gewichthebens so lange fort, bis die Kohlensäureproduktion einen konstanten Minimalwert erreichte.

Es ist vielleicht nicht uninteressant, die im Verlauf des Trainings gewonnenen Ergebnisse mitzuteilen. Bei der hier geschilderten Ver-

---

[1]) *R. Tigerstedt*, Skand. Arch. **28**, 302, 1910.

suchsreihe bestand die Arbeit im Heben einer Kugel von 1,4 kg Gewicht. Die untere Schale des Arbeitsapparates befand sich 0,37 m über dem Boden (etwa in Kniehöhe); die Hubhöhe betrug 1,04 m. Für ein einmaliges Heben berechnete sich eine äußere Arbeit von 1,464 mkg.

*Tabelle VIII.*

| 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nr. | Kalorien pro einmaliges Heben | Kalorien pro mkg äußere Arbeit | Wirkungsgrad | Nr. | Kalorien pro einmaliges Heben | Kalorien pro mkg äußere Arbeit | Wirkungsgrad |
| 6 | 265,0 | 181,0 | 0,0129 | 15 | 171,5 | 117,2 | 0,0199 |
| 7 | 332,0 | 226,8 | 0,0103 | 16 | 168,1 | 114,9 | 0,0204 |
| 8 | 278,3 | 190,2 | 0,0123 | 17 | 190,4 | 133,1 | 0,0176 |
| 9 | 227,8 | 155,6 | 0,0150 | 18 | 229,1 | 156,5 | 0,0149 |
| 10 | 221,3 | 151,1 | 0,0155 | 19 | 184,3 | 125,9 | 0,0186 |
| 11 | 214,6 | 146,6 | 0,0160 | 20 | 165,9 | 113,4 | 0,0206 |
| 12 | 189,3 | 129,3 | 0,0181 | 21 | 166,4 | 113,9 | 0,0206 |
| 13 | 181,8 | 124,2 | 0,0188 | 22 | 163,1 | 111,4 | 0,0210 |
| 14 | 176,6 | 120,7 | 0,0194 | 23 | 170,2 | 116,3 | 0,0201 |

In Spalte 2 ist die Anzahl der Grammkalorien für ein einmaliges Heben des Gewichtes angegeben, die nach Abzug des Ruhestoffwechsels vom Gesamtstoffwechsel berechnet wurden. Spalte 3 enthält die Anzahl der Grammkalorien, die auf 1 mkg äußere Arbeit entfallen. In Spalte 4 ist der Wirkungsgrad dargestellt

$$\left(\frac{\text{Äußere Arbeit}}{\text{Gesamtenergieverbrauch} - \text{Erhaltungsumsatz}}\right).$$

Wir haben die Werte der Tabelle VIII in der Abb. 8 graphisch dargestellt. Die ausgezogene Linie bezeichnet den Verbrauch an Grammkalorien für 1 mkg äußere Arbeit an den einzelnen Übungstagen; durch die gestrichelte Linie ist der Wirkungsgrad wiedergegeben. Bei dieser Darstellung sind die Versuche 17, 18 und 19 weggelassen worden; an diesen Tagen bestand eine körperliche Indisposition, die einen bedeutend vermehrten Energieverbrauch verursachte. Die Kurve zeigt eine deutliche Erhöhung des Stoffverbrauchs am zweiten Übungstage; auch am dritten Tage ist der Wert des ersten Tages noch nicht

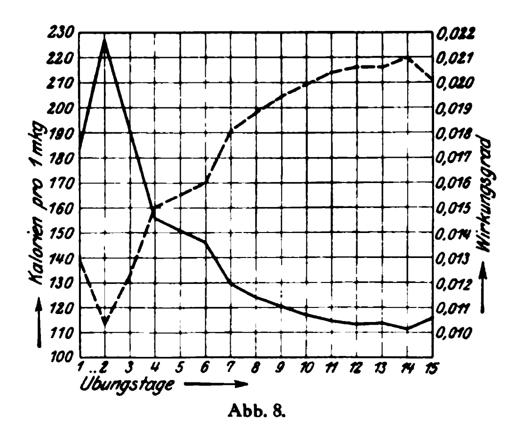


Abb. 8.

wieder erreicht. Diese Erscheinung besitzt ein vollständiges Analogon in der bekannten Verminderung der Leistungsfähigkeit, die am zweiten und dritten Tage eines Trainings, meist verbunden mit Muskelschmerzen, aufzutreten pflegt. Vom zweiten Übungstage an fällt bei unseren Versuchen der Kalorienverbrauch zuerst schnell, dann immer langsamer bis zu einem konstanten Werte. Die Abweichung vom regelmäßigen Kurvenverlauf am fünften und sechsten Tage kann ihre Erklärung darin finden, daß zwischen dem vierten und fünften Übungstage ein Ruhetag (Sonntag) eingeschaltet war. Später, im Zustande der Trainingshöhe, prägt sich eine eintägige Unterbrechung im Kurvenverlauf nicht mehr aus. Die Verringerung des Energieverbrauchs durch die Übung beträgt bei unseren Versuchen 37,3 Proz.

Die Verminderung des Energieaufwandes durch die Übung glauben wir dadurch erklären zu können, daß die Übung, abgesehen von der Vermehrung der absoluten Muskelkraft, die erst nach längerem Training eintritt, eine Ausbildung von Bahnungen zur Folge hat, wodurch es gelingt, Hilfmuskeln auszuschalten und die Arbeit nur auf diejenigen Muskeln zu verteilen, die zu ihrer Durchführung unumgänglich notwendig sind. Die Inanspruchnahme von Hilfsmuskeln verlangt natürlich einen erhöhten Stoffumsatz; je geringer die Zahl der an der Ausführung einer Arbeit beteiligten Muskeln ist, um so geringer wird auch der für die Arbeit benötigte Energieumsatz sein.

*Gruber*[1]) hatte schon darauf hingewiesen, daß mit zunehmender Übung die Kohlensäureausscheidung des Menschen für die gleiche Arbeit abnimmt. Auch *Schnyder*[2]) untersuchte den Einfluß des Trainings auf die Kohlensäureabgabe. Er beobachtete in einer Versuchsreihe eine Verminderung der Kohlensäureausscheidung durch die Übung um 13,9 Proz., in einer zweiten Reihe um 30 Proz. Ebenso fand *Hellsten*[3]) im Verlaufe des Trainings eine regelmäßige Abnahme der Kohlensäureabgabe.

*Gruber* und *Schnyder* nahmen die Untersuchungen aber nur in größeren Zeitabständen vor; die Versuche *Hellstens*, die jeden zweiten Tag ausgeführt wurden, erstrecken sich nur auf einen beschränkten Teil der ganzen Trainingszeit. Sie können deshalb kein lückenloses Bild von dem Verlaufe der Verminderung des Energieverbrauches durch die Übung liefern. Aus diesem Grunde glaubten wir, daß es einiges Interesse haben würde, eine vollständige Übungskurve zu beschreiben.

### 2. Arbeitsversuche.

Die Arbeitsversuche wurden mit verschiedenen Gewichten durchgeführt. Die Gewichte der Kugeln, die bei den Versuchen Verwendung fanden, betrugen 1,4, 1,86 und 2,8 kg.

---

1) *M. v. Gruber*, Zeitschr. f. Biol. **28**, 466, 1891.
2) *Louis Schnyder*, ebendaselbst **33**, 289, 1896.
3) *A. F. Hellsten*, Skand. Arch. **22**, 1, 1909.

Eine zweite Variation, die wir untersuchten, bestand in der Veränderung der Hubhöhen; diese betrugen bei den verschiedenen Versuchen 0,71, 1,04 und 1,37 m.

Weiterhin wurde die Ausgangsstellung, d. h. die Höhe, von welcher die Kugeln emporgehoben wurden, durch Höher- bzw. Tieferstellung des ganzen Arbeitsapparates variiert. Die Ausgangshöhe wechselte zwischen 0,37, 0,70 und 1,03 m über dem Fußboden.

Die Zahl der untersuchten Variationen betrug insgesamt 18; sie sind in der Tabelle IX zusammengestellt.

*Tabelle IX.*

| Stellung | | Ausgangshöhe m | Hubhöhe m | Gewicht |
|---|---|---|---|---|
| 1 | a | 0,37 | 0,71 | 1—3 |
| | b | 0,37 | 1,04 | 1—3 |
| | c | 0,37 | 1,37 | 1—3 |
| 2 | a | 0,70 | 0,71 | 1—3 |
| | b | 0,70 | 1,04 | 1—3 |
| 3 | a | 1,03 | 0,71 | 1—3 |

Wegen der beschränkten Raumverhältnisse konnten wir Ausgangs- und Hubhöhe nicht weiter steigern, auch ließen sich keine schwereren Kugeln verwenden, da die Respirationskammer einer höheren Beanspruchung nicht gewachsen ist.

Auch hier verzichten wir aus Gründen der Raumersparnis auf eine detaillierte Wiedergabe unserer einzelnen Versuchsprotokolle. Es genüge die folgende tabellarische Übersicht zur Beurteilung der Ergebnisse unserer Arbeitsversuche (Tabelle X).

In Spalte 4 ist in Grammkalorien der Energieverbrauch für einmaliges Heben des Gewichtes angegeben, der in folgender Weise errechnet wurde. Bezeichnen wir die pro einmaliges Heben abgegebene Kohlensäuremenge mit $x$, die Gesamtkohlensäureabgabe während des Arbeitsversuches mit $K$, den Ruhestoffwechsel pro Stunde mit $R$, die Stundendauer des Versuches mit $t$ und die Anzahl der Hube mit $A$, so gilt die Gleichung $K = x . A + R . t$.

Diese Gleichung setzt voraus, daß der Energieverbrauch für eine Arbeitsleistung der Größe derselben proportional ist. *Johansson*[1]) und andere Autoren haben nachgewiesen, daß innerhalb gewisser Grenzen dieses Gesetz gültig ist. Multipliziert man den erhaltenen Wert von $x$ mit dem oben erwähnten Standardwert (1 g $CO_2$ = 3 Kalorien), so gelangt man zu den in Spalte 4 angegebenen Zahlen. Daraus ergeben sich die Werte des Energieverbrauches für 1 mkg äußere Arbeit, die in Spalte 5 angeführt sind. In Spalte 6 ist der Wirkungsgrad angegeben, der, wie

[1]) l. c.

*Tabelle X.*

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Stellung | Gewicht kg | Versuch Nr. | Kalorien pro Hubhöhe | Kalorien pro mkg äußere Arbeit | Wirkungsgrad | Leerbewegung Kalorien | Kalorien pro mkg |
| 1 a | 1,4 | 27 | 140,3 | 140,4 | 0,0167 | | |
| | | 28 | 145,0 | 145,1 | 0,0161 | | |
| | | Durchschnitt | 142,7 | 142,8 | 0,0164 | 117,6 | 25.1 |
| | 1,86 | 48 | 276,6 | 209,2 | 0,0112 | | |
| | | 49 | 271,1 | 205,0 | 0,0114 | | |
| | | Durchschnitt | 273,9 | 207,1 | 0,0113 | 240,9 | 24.9 |
| | 2,8 | 46 | 291,3 | 146,2 | 0,0160 | | |
| | | 47 | 289,8 | 145,5 | 0,0161 | | |
| | | Durchschnitt | 290,6 | 145,9 | 0,0161 | 240.9 | 24.9 |
| 1 b | 1,4 | 16 | 168,1 | 114,9 | 0,0204 | | |
| | | 20 | 165,9 | 113,4 | 0,0206 | | |
| | | 21 | 166,4 | 113,9 | 0,0206 | | |
| | | 22 | 163,1 | 111,4 | 0,0210 | | |
| | | 23 | 170,2 | 116,3 | 0.0201 | | |
| | | Durchschnitt | 166,7 | 114,0 | 0,1205 | 130,5 | 24.7 |
| | 1,86 | 39 | 295,3 | 152,4 | 0,0154 | | |
| | | 40 | 310,9 | 160,5 | 0,0146 | | |
| | | 41 | 300,8 | 155,3 | 0,0151 | | |
| | | Durchschnitt | 302,3 | 156,1 | 0,0150 | 254,9 | 24.5 |
| | 2,8 | 44 | 331,2 | 113,5 | 0,0206 | | |
| | | 45 | 325,8 | 111,7 | 0,0210 | | |
| | | Durchschnitt | 228,5 | 112,6 | 0,0208 | 254,9 | 25.2 |
| 1 c | 1,4 | 56 | 189,8 | 98,4 | 0,0238 | | |
| | | 57 | 193,1 | 100,1 | 0,0234 | | |
| | | Durchschnitt | 191,5 | 99,3 | 0,0236 | 144,3 | 24.5 |
| | 1,86 | 54 | 331,6 | 129,9 | 0,0180 | | |
| | | 55 | 334,0 | 130,9 | 0,0179 | | |
| | | Durchschnitt | 332,8 | 130,4 | 0,0179 | 271,0 | 24.2 |
| | 2,8 | 52 | 361,6 | 94,1 | 0,0249 | | |
| | | 53 | 366,5 | 95,3 | 0,0245 | | |
| | | Durchschnitt | 364,1 | 94,7 | 0,0247 | 271,0 | 24,2 |
| 2 a | 1,4 | 72 | 96,3 | 96,3 | 0,0243 | | |
| | | 73 | 95,7 | 95,8 | 0,0244 | | |
| | | Durchschnitt | 96,0 | 96,1 | 0.0244 | 71,5 | 24,5 |
| | 1,86 | 70 | 131,5 | 94,4 | 0,0235 | | |
| | | 71 | 131,1 | 99,1 | 0,0236 | | |
| | | Durchschnitt | 131.3 | 99,3 | 0,0236 | 98.5 | 24.8 |
| | 2,8 | 68 | 147,7 | 74,1 | 0,0316 | | |
| | | 69 | 148,0 | 74,3 | 0,0315 | | |
| | | Durchschnitt | 147,9 | 74,2 | 0,0316 | 98,5 | 24.8 |

*Tabelle X.* (Fortsetzung.)

| 1 Stellung | 2 Gewicht kg | 3 Versuch Nr. | 4 Kalorien pro Hubhöhe | 5 Kalorien pro mkg äußere Arbeit | 6 Wirkungsgrad | 7 Leerbewegung Kalorien | 8 Kalorien pro mkg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2b | 1,4 | 64 | 117,6 | 80,3 | 0,0291 | | |
| | | 65 | 122,8 | 83,9 | 0,0279 | | |
| | | Durchschnitt | 120,2 | 82,1 | 0,0285 | 84,0 | 24,7 |
| | 1,86 | 62 | 159,8 | 82,5 | 0,0284 | | |
| | | 63 | 158,9 | 82,0 | 0,0285 | | |
| | | Durchschnitt | 159,4 | 82,3 | 0,0285 | 111,6 | 24,7 |
| | 2,8 | 60 | 183,8 | 63,0 | 0,0372 | | |
| | | 61 | 183,4 | 62,8 | 0,0372 | | |
| | | Durchschnitt | 183,6 | 62,9 | 0,0372 | 111,6 | 24,7 |
| 3a | 1,4 | 80 | 84,2 | 84,3 | 0,0278 | | |
| | | 81 | 85,2 | 85,2 | 0,0275 | | |
| | | Durchschnitt | 84,7 | 84,8 | 0,0277 | 59,9 | 24,8 |
| | 1,86 | 78 | 94,0 | 71,1 | 0,0329 | | |
| | | 79 | 95,0 | 71,9 | 0,0326 | | |
| | | Durchschnitt | 94,5 | 71,5 | 0,0328 | 61,9 | 24,6 |
| | 2,8 | 76 | 111,4 | 55,9 | 0,0419 | | |
| | | 77 | 110,6 | 55,5 | 0,0421 | | |
| | | Durchschnitt | 111,0 | 55,7 | 0,0420 | 61,9 | 24,6 |

$$\text{I.}\quad x + 1{,}992 \,.\, y = 290{,}6$$
$$\text{II.}\quad x + 1{,}323 \,.\, y = 273{,}9$$
$$x = 240{,}9$$
$$y = 24{,}9$$

Die $y$-Werte sind in Spalte 8 wiedergegeben.

oben ausgeführt, das Verhältnis der geleisteten äußeren Arbeit zum Energieaufwand nach Abzug des Erhaltungsumsatzes angibt. In Spalte 7 ist der Energieverbrauch für die zur Ausführung der Arbeit notwendige Leerbewegung eingetragen. Die Größe der Leerbewegung wurde bei den Versuchen mit Gewicht 1 jeweils experimentell bestimmt; bei den Versuchen mit Gewicht 2 und 3 wurde sie nach dem Vorgange *Katzensteins*[1]) aus je zwei entsprechenden Versuchen berechnet.

Als Durchschnitt der Versuche 46 und 47 (s. Tabelle X) ergibt sich z. B. für ein einmaliges Heben des Gewichtes ein Energieverbrauch von 290,6 cal; die bei einem Hub geleistete Arbeit betrug 1,992 mkg. Als Durchschnitt der Versuche 48 und 49 erhalten wir einen Energieverbrauch für ein einmaliges Heben des Gewichtes 2 von 273,9 cal; die pro Hub geleistete Arbeit betrug 1,323 mkg. Bezeichnen wir den

[1]) *G. Katzenstein*, Pflügers Arch. 49, 330, 1891.

Energieverbrauch für die Leerbewegung mit $x$, den Energieverbrauch, der auf die reine Arbeitsleistung von 1 mkg entfällt, mit $y$, so können wir die Gleichungen I und II aufstellen.

Eine Betrachtung der Tabelle ergibt, daß die Werte in Spalte 8, d. h. die Kalorien pro Meterkilogramm geleistete Arbeit, nach Abzug der Leerbewegung bei allen Versuchen konstant sind. Das besagt, daß bei allen von uns untersuchten Stellungen und Gewichten die Mitnahme der Last unter dem gleichen Wirkungsgrade erfolgt. Es muß also diejenige Bewegung die günstigste sein, bei der pro Meterkilogramm geleisteter äußerer Arbeit der Kalorienverbrauch der Leerbewegung möglichst klein ist. Innerhalb der von uns untersuchten Grenzen wird ein Hub also um so ökonomischer ausgeführt, je größer das Gewicht der Last ist, die emporgehoben wird.

Andererseits wird die Leerbewegung im Verhältnis zur geleisteten äußeren Arbeit um so kleiner, je weniger eine Bewegung des gesamten Körpers notwendig wird. Deshalb ist Stellung 1a, bei der ein starkes Bücken notwendig ist, wesentlich ungünstiger als 3a, wo die Arbeit nur mit den Armen ausgeführt wird. Wiederum ist von den Stellungen, bei welchen die niedere Ausgangsstellung ein tiefes Bücken erfordert, diejenige günstiger, bei welcher die Hubhöhe größer ist. Der Kalorienmehrbedarf der Leerbewegung ist bei der größeren Hubhöhe im Vergleich zu der Mehrleistung äußerer Arbeit relativ klein. Daher ist die Stellung 1a ungünstiger als 1b, diese wieder ungünstiger als 1c. Ebenso liegen die Verhältnisse bei 2a und 2b; die Stellung 2b ist wegen ihrer größeren Hubhöhe günstiger als 2a.

Die angeführten Gesetzmäßigkeiten haben wir auf Grund von Variationen, die sich nur über ein relativ enges Bereich erstrecken, abgeleitet. Es ist von vornherein nicht anzunehmen, daß der Satz, daß die Arbeit mit steigender Belastung ökonomischer wird, für alle Gewichte gilt. Es ist vielmehr zu erwarten, daß von einem bestimmten Gewichte an die Arbeit wieder ungünstiger wird. Aus den angeführten äußeren Gründen konnten wir aber das Gewicht nicht so weit steigern, bis die Arbeit wieder unökonomischer wurde. Aus Versuchen, in denen der eine von uns (*L.*) gemeinsam mit *Full* den Energieverbrauch beim Hantelstoßen am *Benedict*schen Respirationsapparat untersuchte, ergab sich, daß von einem kräftigen Manne ein Gewicht von 25,25 kg mit dem günstigsten Wirkungsgrad gehoben wird.

Auch der Satz, daß durch jedes Bücken der Arbeitsprozeß unökonomischer wird, braucht durchaus keine allgemeine Gültigkeit zu besitzen. Wir möchten darauf hinweisen, daß bei unseren Kurbelversuchen zwar für den großen Radius, also für relativ geringe Arbeit pro Längeneinheit der Peripherie, immer die Höhe die günstigste war, wo ein Bücken nicht nötig wurde, daß jedoch bei kleinem Radius und

großer Belastung eine tiefgebückte Stellung ökonomischer war als eine aufrechte. Entsprechend dürfte das Heben eines sehr schweren Gewichtes etwa von der Höhe 0 auf 50 cm unter günstigeren Bedingungen stattfinden als von 100 auf 150 cm.

Gehen wir noch kurz auf die Arbeiten früherer Autoren ein, in denen der Energieverbrauch beim Heben von Gewichten untersucht wurde. *Speck*[1]) stellte analoge Versuche an und fand pro Meterkilogramm Hubarbeit einen Energieverbrauch von 21,8 g-cal. *Hanriot* und *Richet*[2]) bestimmten für 1 mkg Arbeit einen Energieverbrauch von 24,9 g-cal. Vergleichen wir unsere Werte — die in Spalte 8 der Tabelle X angegebenen Zahlen, im Durchschnitt 24,7 g-cal — mit den Resultaten der genannten Autoren, so finden wir eine überraschende Übereinstimmung mit den Werten von *Hanriot* und *Richet*.

Die Arbeit des Gewichthebens wird mit verbesserter Methodik fortgesetzt; wir hoffen, demnächst Näheres hierüber mitteilen zu können.

**Zusammenfassung.**

Das Taylorsystem wird vom Standpunkt des Physiologen beleuchtet. Die Nachteile werden erörtert und es wird erläutert, in welcher Weise der Physiologe an der Verbesserung des Systems im speziellen und an dem Ausbau der Arbeitswissenschaft im allgemeinen mitwirken kann.

Nach einem Überblick über das bisher, besonders von *Jules Amar* Geleistete, wird eine neue, für die Praxis bestimmte Arbeitsrichtung beschrieben. Die Gesamtarbeit wird in Elemente zergliedert. Jede dieser Teilarbeiten wird möglichst vielen, im praktischen Leben vorkommenden Variationen unterworfen. Für alle Ausführungsmöglichkeiten des Arbeitselementes wird in Respirationsversuchen der optimale Wirkungsgrad bestimmt.

Die so gewonnenen Zahlen sollen eine Grundlage für die Rationalisierung der Arbeitsprozesse bilden. Ermüdungsstudien gestatten es dann, die pro Tag zulässige Arbeitssumme objektiv zu ermitteln.

Mit dem *Benedict*schen Respirationsapparat wird das Kurbeldrehen untersucht, wobei Belastung, Höhe und Radius der Kurbel variiert werden. Es wird gefunden:

1. Für alle Zusammenstellungen von Höhe und Radius fällt bei steigender Belastung der Kalorienverbrauch pro Meterkilogramm äußerer Arbeit auf ein Minimum, um dann wieder zu steigen.

---

[1]) *C. Speck*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **45**, 451, 1889.

[2]) *M. Hanriot* und *C. H. Richet*, C. r. **105**, 76, 1887.

2. Die optimale Belastung einer Kurbel ist bei größerem Radius eine höhere.

3. Die optimale Belastung wird mit steigender Höhe der Kurbel über dem Boden kleiner.

4. Der optimale Radius steigt etwas mit der Höhe.

In Tabellen werden die optimalen Zusammenstellungen von Belastung, Radius und Höhe wiedergegeben, so daß der Ingenieur die jeweils zweckmäßigsten Bedingungen daraus ersehen kann.

Anhangsweise wird bei der Untersuchung der Arbeit des Gewichthebens, die in ähnlicher Weise variiert wurde, eine genaue Trainingskurve besprochen.

# Der Alkoholspiegel im Blute gewöhnter und ungewöhnter Kaninchen nach einem Probetrunk[1].

Von

**W. Faure** und **S. Loewe.**

(Aus dem Institutum Pharmacologicum Universitatis Dorpatensis.)

*(Eingegangen am 23. August 1923.)*

Mit 4 Abbildungen im Text.

Während an einer Reihe von *anderen* Tierarten die Alkoholkonzentration im Blute nach Alkoholgaben in der verschiedensten Richtung untersucht worden ist und auch im Zusammenhang mit der Gewöhnungsfrage Bearbeitung gefunden hat, sind gerade am *Kaninchen* derartige Messungen kaum vorgenommen worden. Diese Lücke ausgefüllt zu sehen, war für uns Voraussetzung für die Verfolgung eines ferneren Zieles, indessen erscheinen uns die Ergebnisse dieser Vorversuche doch einer kurzen gesonderten Mitteilung wert, nachdem genauere Daten in der bisherigen Literatur zu fehlen scheinen.

Es lag in unserer Absicht, die *Alkoholkonzentration im Blute* von Kaninchen in dem Zeitraum messend zu verfolgen, der sich an die *einmalige perorale Darreichung einer mittleren Gabe von Äthylalkohol* anschließt, und zugleich etwaige *Unterschiede im Verhalten gewöhnter und nicht gewöhnter Kaninchen* unter diesen Bedingungen zu prüfen.

Bekanntlich ist die Zeitkurve der Alkoholkonzentration im Blute (künftig als *Konzentrationskurve* bezeichnet) nach einer Alkoholgabe („*Probetrunk*") wohl zuerst von *Grehant*[2]) verfolgt worden. Nach einem Probetrunk von 5 ccm absoluten Alkohols erreicht der Alkoholspiegel des Blutes beim Hunde einen Höchstwert von 0,5 bis 0,6 Proz. nach $2\frac{1}{2}$ bis 3 Stunden.

---

[1]) Für die am 1. November 1922 abgeschlossene Arbeit, die hier in gedrängter Form wiedergegeben wird, wurde dem einen von uns *(F.)* von der medizinischen Fakultät der Preis der „*Eesti Karskusliit*" („Estnische Enthaltsamkeitsvereinigung") zuerkannt.

Die Untersuchungen wurden mit einer Arbeitsbeihilfe der „Eesti Karskusliit" ausgeführt, wofür wir der Vereinigung auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

[2]) *Grehant*, C. r. **129**, 746, 1899.

Die Untersuchungen von *Schweisheimer*[1]), die ersten am Menschen, denen somit besondere Bedeutung beigemessen wird, führten nach einem Probetrunk von 1,57 ccm pro Kilogramm zu Höchsterhebungen der Konzentrationskurve bis etwa 0,15 Proz., die 1½ Stunden nach der Aufnahme erreicht waren. Am Kaninchen hat allein *Pringsheim*[2]) an *einem* ungewöhnten Tier *eine* derartige Bestimmungsserie ausgeführt. Der Höchstwert seiner Konzentrationskurve, nach einer gleich hohen Probegabe, wie sie *Grehants* Hunde erhalten hatten, liegt mit 0,5 Proz. nach 2 Stunden vielleicht ein wenig niedriger.

*Gewöhnungsversuche* mit chronischer Alkoholdarreichung sind an den verschiedensten Tierarten oft genug angestellt worden, meist im Hinblick auf die Frage der Reproduzierbarkeit der chronischen Alkoholschäden des Menschen im Tierversuche[3]). Der Tatbestand der Gewöhnung ist in allen diesen Tierversuchen in recht wechselndem Maße definiert und erzeugt worden. In der besonders sorgfältigen Arbeit von *Völtz* und *Dietrich*[4]) z. B. ist eine Gewöhnungsdauer von *über 6 Monaten* am Hunde erzielt, jedoch ist in diesen Versuchen *stets die gleiche sehr geringe Alkoholtagesgabe* von 2 ccm pro Kilogramm dargereicht und ein Ansteigen in der Dosis nicht versucht, somit auch keine Beobachtung über den Grad der Gewöhnung im Sinne einer Toleranzsteigerung angestellt worden. Die wegen der Alkoholbestimmungen im Gesamtkörper grundlegend gewordenen Rattengewöhnungen *Pringsheims* sind zwar mit *steigenden* Tagesgaben von 2 bis 5 ccm pro Kilogramm ausgeführt, jedoch erstreckt sich die Gewöhnungsperiode nur über einen Zeitraum *von 3 Wochen*. Auch neuere Rattenversuche von *Kostytsch*[5]) arbeiten nur mit einer Gewöhnungsdauer von *wenigen Wochen*; in diesem Falle kann der Verfasser die Kürze der Gewöhnungsperiode freilich aus seinen Ergebnissen rechtfertigen, weil sie ihm die Erfahrung brachten, daß bereits nach recht niedrigen Alkoholgaben und nach einer Gewöhnungsdauer von nur 10 bis 20 Tagen die *eine* von ihm studierte Folgeerscheinung chronischer Alkoholwirkung, die Veränderung am Genitalapparat, einzusetzen beginnt.

*Auch am Kaninchen* sind derartige Gewöhnungsversuche gemacht worden, und gerade an dieser Tierart hat sich die Gewöhnung als besonders unsicher bestimmbar erwiesen. So hat z. B. *Rosenfeld*[6]) nur *ein* Tier aufzuweisen, das in 33 Einzeldosen *binnen 2¾ Monaten* von 2,5 auf 9 ccm absoluten Alkohols pro Kilogramm emporgetrieben worden war. Von den 10 Kaninchen, die *Hirsch*[7]) zur Erzeugung alkoholgewöhnter Lebern chronisch behandelt hat, weisen nur 6 eine *über 5 Wochen* hinausgehende Gewöhnungsperiode auf, in der dann allerdings 5 von ihnen Einzelgaben von 8 oder 8,5, ja sogar 10 ccm Alcohol absol. pro Kilogramm mehrfach erhalten haben. Beide Autoren heben hervor, daß die Gewöhnung *an dem*

---

[1]) *Schweisheimer*, Arch. f. klin. Med. **109**, 271, 1913.

[2]) *Pringsheim*, diese Zeitschr. **12**, 143, 1908.

[3]) Vgl. die Zusammenstellung *Kochmanns* in *Heffter*, Handb. d. exper. Pharmakol. **1**, 362ff (Berlin 1923); nicht häufig ist dort die Tierart, nur selten die Gewöhnungsdauer und -höhe angegeben.

[4]) *Völtz* und *Dietrich*, diese Zeitschr. **68**, 118, 1913.

[5]) *Kostytsch*, Action de l'alcoolisme éxpérimental sur le testicule. Strasbourg 1921.

[6]) *Rosenfeld*, Zeitschr. f. Immunforsch. **77**, 129, 1916.

[7]) *Hirsch*, diese Zeitschr. **77**, 129, 1916.

*Ausfall der akuten Alkoholwirkung nicht deutlich zu erkennen* war; sie finden *große Schwankungen* in dem Grade der zentralnervösen Wirkung selbst unmittelbar aufeinander folgender Alkoholgaben auch an dem gleichen Tier. Dies stimmt mit den Erfahrungen früherer Untersucher überein, daß auch die tödliche Gabe eine recht schwankende Zahl ist. So stehen der allgemeinen Annahme, daß die tödliche Grenzdosis bei etwa 10 ccm pro Kilogramm liegt, tödliche Wirkungen bereits nach etwa 8 ccm [*Vollmering*[1]), *Hirsch*[2])] gegenüber, andererseits überleben auch ungewöhnte Tiere unter Umständen noch nach 14 ccm pro Kilogramm (*Langgaard*).

*Blutuntersuchungen* sind indessen in allen diesen Gewöhnungsversuchen am Kaninchen nicht gemacht worden. An dieser Tierart scheint die erste Untersuchung über chemische Alkoholgewöhnung überhaupt, diejenige *Pringsheims*, auch die einzige geblieben zu sein, welche der Blutkonzentration eine gewisse Aufmerksamkeit widmete. Im Vergleich mit dem einen, zur Prüfung der Konzentrationskurve verwendeten ungewöhnten Tier untersuchte *Pringsheim* gleichfalls ein einziges nach vorausgegangener Alkoholgewöhnung. Er hat dieses Tier ebenso wie einige andere, zu Organanalysen verwendete mit *steigenden* Dosen von 2 bis 7 ccm über einen Zeitraum von *26 Tagen* gefüttert. Dabei hat er einen von ihm selbst als „ziemlich beträchtlich" bezeichneten Gewöhnungsgrad beobachtet; der mehrere Stunden anhaltende, „tief komatöse" Zustand nach erstmaliger Darreichung einer höheren Gabe wich nach einigen Gewöhnungstagen einer mäßigen Exzitationswirkung.

## Methodik.

*Gewöhnung*: Im Hinblick auf die bisherigen Gewöhnungsversuche am Kaninchen legten wir Wert darauf, möglichst hohe Gewöhnungsgrade zu erreichen. Dabei kam es auf eine möglichst *lange Ausdehnung der Gewöhnungsperiode* an. Denn *Steigerung der ertragenen Einzelgabe* konnte deswegen nicht das *Ziel* sein, weil ja die Gewöhnung gerade an für den Allgemeinzustand bedeutsame Wirkungen nur in unsicherer Weise zustande kommt. Wir begannen mit Einzelgaben von 2 ccm Alcohol absolutus pro Kilogramm[3]) und stiegen nach Maßgabe des Gesamtverhaltens unter längerer Beibehaltung der einzelnen Dosis ganz allmählich zu höheren Gaben an. Der Abstand der einzelnen Gaben schwankte zwischen einem und mehreren Tagen, je nach dem Verhalten des genau beobachteten Körpergewichtes. Wenn irgend möglich, nahmen wir *Würfe* aus drei bis sieben Tieren in Versuch und unterwarfen einige Geschwister ohne Alkoholfütterung der Gewichtskontrolle. War die Gewichtsabnahme nicht merklich oder wieder eingeholt, so wurde mit der Alkoholverabreichung fortgefahren.

Im Gegensatz zu *Hirsch* und *Rosenfeld* konnten wir die Intensität der Wirkung doch bis zu einem gewissen Grade als Maßstab für das Fortschreiten der Gewöhnung benutzen. Nach längerer Wiederholung einer Gabe nahm, wie dies *Pringsheim* beschreibt, deren Wirksamkeit in unseren

[1]) *Vollmering*, Inaug.-Diss. Gießen, 1912.

[2]) *Hirsch*, diese Zeitschr. 77, 129, 1916.

[3]) Auch bei allen künftigen Angaben über Alkoholmengen werden *Kubikzentimeter absoluten Alkohols* verstanden; der verwendete Alkohol entstammte der Firma C. A. F. Kahlbaum; das Institut verdankt einen größeren Vorrat dieses Reinpräparates der Freundlichkeit eines ungenannten deutschen Spenders, dem auch an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen sei.

Versuchen doch regelmäßig in gewissem Umfange ab. Bei den Anfangsdosen von 2,5 bis 3,5 ccm pro Kilogramm fehlte oft deutliche Allgemeinwirkung, sie begann ziemlich regelmäßig bei jüngeren Tieren mit Gaben von 3,5 ccm, bei älteren mit Gaben von 4,5 ccm pro Kilogramm. Aus der Zahl unserer gewöhnten Tiere haben 10 zu den im folgenden zu berichtenden Blutbestimmungen Verwendung gefunden, Unter ihnen finden sich *zwei Tiere mit einer Gewöhnungsperiode von etwa 4½ Monaten, je eines von 6½ bzw. 8 Monaten Gewöhnungsdauer. Auch die übrigen sechs Tiere erreichten zum Teil längere Gewöhnungsperioden, wie die in der Literatur beschriebenen, nur drei wurden nach einer kürzeren Gewöhnungsperiode von nur 1½ Monaten in Versuch genommen.*

„*Probetrunk*": Bei der Wahl des „Probetrunkes", d. h. der Einzelgabe, deren Einfluß auf den Alkoholspiegel des Blutes im Einzelversuch gemessen werden sollte, mußten uns insbesondere diejenigen Erfahrungen leiten, die davor warnen, die Folgeerscheinungen einer allzu hohen Alkoholgabe mit denjenigen geringerer Dosen auf eine Stufe zu stellen[1]). So war z. B. jede sekundäre Stoffwechselstörung zu vermeiden. Eine solche geht mit Verschlechterung der Nahrungsaufnahme, Gewichtssturz, Abmagerung usw. einher, so daß auch in den vorausgehenden Gewöhnungsperioden bereits von einem Hochtreiben der Gewöhnungsgabe bis zu solcher Höhe, daß als Folge nachhaltigerer Narkosezustände längere Nahrungsenthaltung mit Gewichtssturz (wie von uns so z. B. auch bereits von *Hirsch* hervorgehoben) auftritt, abgesehen wurde. Vor allem aber war die Angabe von *Goddard*[2]) zu beachten, daß maximale Alkoholgaben keineswegs in ihrer Hauptmasse verbrannt werden, sondern zu einem erheblichen Teil der Verbrennung entgehen können, und nicht minder diejenige *Mellanbys*[3]), daß unabhängig von der Höhe der Einzelgabe in der Zeiteinheit nur eine bestimmte Alkoholmenge verbrannt werden kann.

Daher wählten wir für den Probetrunk stets *3,0 ccm Alcohol absolutus pro Körperkilo*. Diese Gabe wurde *in 6proz. Lösung mit der Schlundsonde auf einmal* verfüttert, um den Zeitpunkt der Alkoholdarreichung (z. B. im Gegensatz zu dem über ½ Stunde hingezogenen Probetrunk von *Schweisheimers* menschlichen Blutspendern) scharf festzulegen. Wir entnahmen dann *vor allem in den ersten 90 Minuten* nach diesem Zeitpunkt möglichst häufig die Blutproben zur Alkoholbestimmung, und zwar nach 10, 20, 30, 45, 60 und 90 Minuten (auch dies belehrt durch die Ergebnisse *Schweisheimers*, bei dem gerade für die Zeit zwischen der 30. und 90. Minute – vgl. unsere Kurve – eine Lücke klafft). Nur in einer geringeren Zahl von Entnahmen prüften wir auch die Alkoholkonzentration nach 120, 180 bzw. 240 Minuten.

Die ungewöhnten Kontrolltiere wurden *nur je einmal* zum Probetrunk herangezogen, Lücken in der Kurve des einzelnen Tieres durch Heranziehung eines anderen ausgeglichen. Die gewöhnten Tiere hingegen konnten zu *wiederholten* Versuchen verwendet werden.

*Blutentnahme und Alkoholbestimmung:* Wir benötigten für die einzelne Bestimmung etwa 2 bis 3 ccm Blut, die unserer Absicht gemäß möglichst häufig nach dem Probetrunk, also in Zeitabständen bis zu 10 Minuten herunter und bis zu sechsmal in Verlauf weniger Stunden, entnommen

---

1) Vgl. z. B. *Rosemann* in Oppenheimers Handb. d. Biochem.
2) *Goddard*, The Lancet **167**, 1132, 1904.
3) *Mellanby*, Proc. Roy. Soc. of Med. **13**, 31, 1920.

werden mußten, und zwar mit möglichster Schnelligkeit unter Vermeidung von Gerinnung und unter Einhaltung möglichst gleichmäßiger Entnahmebedingungen. Die im übrigen bewährte Methode des Abtrennens eines Ohrzipfels durch scharfen Scherenschnitt versagte uns häufig eine ausreichende Blutmenge in genügend kurzer Zeit. Günstigere Ergebnisse erzielten wir, als wir diese Art der Entnahme durch Anlegung einer Saugglocke ergänzten. Doch auch hier floß das Blut oft zu langsam, als daß vorzeitige Gerinnung vermieden worden wäre. Außerdem erschien uns dieses Vorgehen, obwohl wir deutlich abweichende Alkoholziffern dabei niemals beobachteten, hinsichtlich der Zusammensetzung des gewonnenen Blutes und der Gefahr von Alkoholverlusten durch Verdunstung nicht ganz einwandfrei; auch traten zuweilen beim Einsaugen des ganzen äußeren Ohres in die Saugglocke Blutungen aus dem Gehörgang auf. So entnahmen wir schließlich für den größten Teil unserer Bestimmungen das Blut aus einer *Halsvene*.

Das Blut wurde in einem Meßkölbchen aufgefangen, das aus einer Bürette mit gesättigter Natriumsulfatlösung beschickt war. Nach der Blutentnahme wurde der Meßkolben bis zu seiner Marke wiederum mit weiterer Natriumsulfatlösung aus der Bürette aufgefüllt und so durch Differenzbestimmung die entnommene Blutmenge ohne Wägung genau ermittelt. Die Blut-Natriumsulfatmischung wurde dann in einen Erlenmeyerkolben übergeführt, der schließlich mit der Spülflüssigkeit zusammen etwa 30 bis 40 ccm Blutlösung enthielt. Aus ihm wurde die Destillation des Alkohols mit anschließender Reinigung (Schäumen!) und Einengung durch eine zweite Destillation vorgenommen. Wir sahen dabei auf Grund unserer Vorversuche von der Verwendung des Vakuums ab und erhitzten in einem verdünntes Glycerin enthaltenden Bade, wodurch vorausgehendes Enteiweißen der Destillationsflüssigkeit erspart werden konnte. Die *Doppeldestillation* verhalf uns zur Anreicherung des gesamten Alkohols in höchstens 4 ccm Flüssigkeit. Diese titrierten wir dann nach der ursprünglichen kolorimetrischen Methode *Nicloux's*[1]) mit einer 9,5prom. Kaliumbichromatlösung. Die aufgefangene Menge reichte stets zu mehreren Paralleltitrationen aus. Wie die Vorversuche der folgenden Tabelle I zeigen, ist die Genauigkeit ausreichend. In den Hauptversuchen wurde eine weitere Kontrolle ausgeübt, indem fast stets gleichzeitig (also binnen 1 bis 5 Minuten) *Doppelproben* entnommen und getrennt verarbeitet wurden.

*Tabelle I.*

Vorversuche; zu je 5 ccm Normalblut je 9,9 mg Alcohol absolutus zugesetzt.

| Versuch Nr. | Verbrauchte Bichromatlösung pro ccm Destillat ccm | Destillatmenge ccm | Gefundene mg Alc. absolutus | Differenz |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,90 | 3,99 | 9,52 | —0,38 |
| 2 | 0,89 | 4,01 | 9,45 | —0,45 |
| 3 | 0,82 | 4,53 | 9,85 | —0,05 |
| 4 | 0,94 | 3,96 | 9,87 | —0,03 |
| 5 | 0,99 | 3,60 | 9,46 | —0,44 |
| 6 | 0,90 | 4,03 | 9,61 | —0,29 |
| 7 | 0,82 | 4,41 | 9,59 | —0,31 |

[1]) Die schöne Methode *Widmarks* (diese Zeitschr. **181**, 473, 1922) wurde uns leider erst nach Abschluß unserer Arbeit bekannt.

**Übersicht über den Versuchsverlauf.**

Die folgende Übersicht der Tabelle II gibt [statt einzelner Versuchsprotokolle[1])] Auskunft über den Gang der Versuche, den Zeitpunkt der Blutentnahmen und den Allgemeinzustand der von uns verwendeten Tiere.

In der Tabelle II bezeichnet „K" Kontrolltiere. Die ungewöhnten Geschwister eines Wurfes sind als *Gewichts*kontrollen der gewöhnten Tiere des gleichen Wurfes mit in die Tabelle aufgenommen, auch ohne daß sie als *Blut*kontrollen verwendet wurden. Im übrigen finden sich in der Tabelle die gewöhnten Tiere nach dem Grade der Gewöhnung aufgeführt, der sowohl durch die Gewöhnungsdauer als auch durch die höchste erreichte Einzeldosis gekennzeichnet ist. Wir haben ferner in der Tabelle hervorgehoben, wie lange jeweils vor einem Probetrunktage die Darreichung der Gewöhnungsgaben unterbrochen worden war (vorletzte Spalte). Endlich enthält die letzte Spalte die Zeitpunkte nach dem Probetrunk (den Zeitabstand von dessen Darreichung in Minuten angegeben), zu welchen dem Tier eine bzw. meistens zwei Blutproben zur Alkoholbestimmung entnommen wurden. Wurde ein und dasselbe gewöhnte Tier an mehreren Tagen, also nach verschiedener Gewöhnungsdauer, zum Probetrunk und zur Blutentnahme herangezogen, so ist dies hervorgehoben, indem das Tier in besonderer Zeile nochmals in die Tabelle aufgenommen ist.

Der *Allgemeinzustand* der Tiere während der Gewöhnung und im besonderen an den Probetrunktagen, der freilich aus den ausführlichen Gewichtskurven noch deutlicher würde, ist in den Gewichtsangaben der Spalten 5 und 6 der Tabelle II angedeutet. Nicht selten sieht man die chronisch alkoholisierten Tiere in schlechterer Gewichtszunahme; manche bleiben im Gewicht hinter den unbehandelten Geschwistern deutlich zurück, bei anderen fällt dies nicht auf, einige erzielten sogar einen Gewichts*vorsprung* unter fortdauernder Darreichung des Alkohols. Deutliche Zusammenhänge zwischen dem Verhalten des Alkohols im Blute nach dem Probetrunk und dem Allgemeinzustand der Tiere werden jedenfalls niemals deutlich, solange sich die Änderung des Allgemeinzustandes auf dieses gleichmäßig im Verlauf der ganzen Gewöhnungsperiode sich entwickelnde Zurückbleiben des Körpergewichts beschränkt. Anders ist es freilich bei plötzlicher auftretenden, stärkeren Gewichtsstürzen infolge einer mehrere Tage anhaltenden Schädigung nach zu schnellem Anstieg der Gewöhnungsdosen. Hierfür ist Tier 35 ein Beispiel. Ihm wurde der Probetrunk verabreicht, als es in der Gewöhnung zu hoch getrieben war, und man ist wohl berechtigt, den auffallenden Kurvenverlauf des Alkoholspiegels in seinem Blute hiermit in Zusammenhang zu bringen.

Der *Zeitabstand des Probetrunkes von der letztvorausgegangenen Gewöhnungsgabe* ist wechselnd. Meist beträgt er mehr als 24 Stunden. Doch scheint er in allen Fällen für den Blutspiegel bedeutungslos zu sein; auch wenn nur 24 Stunden zuvor die letzte Gewöhnungsgabe dargereicht war, hatte der Probetrunk kein abweichendes Verhalten des Alkoholspiegels im Blute zur Folge.

---

[1]) Von einer Wiedergabe der Gewichtskurven, aus denen alle Einzelheiten der Versuchsgeschichte unserer Kaninchen am übersichtlichsten hervorgehen, mußte leider Abstand genommen werden.

*Tabelle II.*

| Tier Nr. | Wurf | Gewöhnungsdauer Tage | Anstieg bis ? ccm pro kg ccm | Anfangsgewicht g | Gewicht am Probetrunktage g | Nummer der Einzelbestimmung | Wie lange Trinkpause vor dem Entnahmetage Tage | Entnahme nach dem Probetrunk Minuten |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 103 | A. | K. | — | 920 | 1600 | — | — | — |
| 99 | „ | 33 | 5 | 1080 | 1320 | 63—70 | 6 | 10, 60 |
| 99 | „ | 44 | 5 | 1080 | 1160 | | 4 | 30, 90, 240 |
| 101 | „ | 33 | 5 | 1190 | 1200 | 71—83 | 6 | 10, 30, 45, 60 |
| 101 | „ | 44 | 5 | 1190 | 1220 | | 4 | 45, 60, 90 |
| 102 | „ | 33 | 5 | 1030 | 1530 | 84—94 | 6 | 30, 45, 60, 120 |
| 102 | „ | 44 | 5 | 1030 | 1460 | | 4 | 10, 20, 45, 120 |
| 69 | B. | K. | — | 1010 | 1670 | 44—47 | — | 30, 60 |
| 68 | „ | 56 | 4,5 | 1130 | 1300 | 95—105 | 6 | 45, 60, 120 |
| 68 | „ | 64 | 5 | 1130 | 1330 | | 2 | 10, 30 |
| 68 | „ | 72 | 5 | 1130 | 1480 | | 4 | 20, 90 |
| 80 | C. | K. | — | 1820 | 2250 | — | — | — |
| 78 | „ | „ | — | 2130 | 2980 | — | — | — |
| 77 | „ | 63 | 6 | 1990 | 1820 | 106—108 | 2 | 30, 60 |
| 77 | „ | 82 | 6 | 1990 | 1950 | | | 120 |
| 79 | „ | 64 | 6 | 1820 | 1830 | 109—115 | 2 | 10, 30, 60, 90 |
| 79 | „ | 66 | 6 | 1820 | 1780 | | 2 | 20, 45 |
| 52 | D. | K. | — | 1840 | 2070 | — | — | — |
| 51 | „ | 92 | 5 | 1500 | 1380 | 116—123 | 1 | 30 |
| 51 | „ | 93 | 5 | 1500 | 1300 | | 2 | 60 |
| 51 | „ | 106 | 5 | 1500 | 1540 | | 5 | 10, 20, 45, 240 |
| 51 | „ | 109 | 5 | 1500 | 1670 | | 1 | 10, 30 |
| 53 | „ | 92 | 4,5 | 1820 | 1230 | 124—127 | 3 | 30 |
| 53 | „ | 93 | 4,5 | 1820 | 1170 | | 4 | 60 |
| 53 | „ | 109 | 5 | 1820 | 1410 | | 1 | 10, 20 |
| 62 | E. | K. | — | 1470 | 2210 | — | — | — |
| 61 | „ | 200 | 5 | 1770 | 1670 | 128—129 | 1 | 90 |
| 35 | F. | 237 | 7,5 | 1460 | 1110 | 130—131 | 3 | 90, 120 |
| 95 | — | K. | — | — | 1450 | 1—12 | — | 10, 20, 30, 45, 60, 90 |
| 96 | — | „ | — | — | 1370 | 13—24 | — | 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 |
| 98 | — | „ | — | — | 1050 | 25—26 | — | 60 |
| 105 | — | „ | — | — | 1600 | 27—32 | — | 10, 20, 90 |
| 107 | — | „ | — | — | 2140 | 33—38 | — | 10, 30, 90, 120, 180 |
| 111 | — | „ | — | — | 2200 | 39—40 | — | 60 |
| 67 | — | „ | — | — | 1600 | 41—43 | — | 30, 60, 120 |
| 86 | — | „ | — | — | 1180 | 48—50 | — | 30, 45, 90 |
| 92 | — | „ | — | — | 1320 | 51—58 | — | 10, 30, 45, 90 |
| 94 | — | „ | — | — | 1130 | 59—60 | — | 60 |
| 108 | — | „ | — | — | 1880 | 61—62 | — | 60 |

Die Ergebnisse der Alkoholbestimmung in den Blutproben, deren Entnahmezeit in der Tabelle II aufgeführt ist, bringen wir nur in graphischer Darstellung in den Kurven der Abb. 1 bis 4.

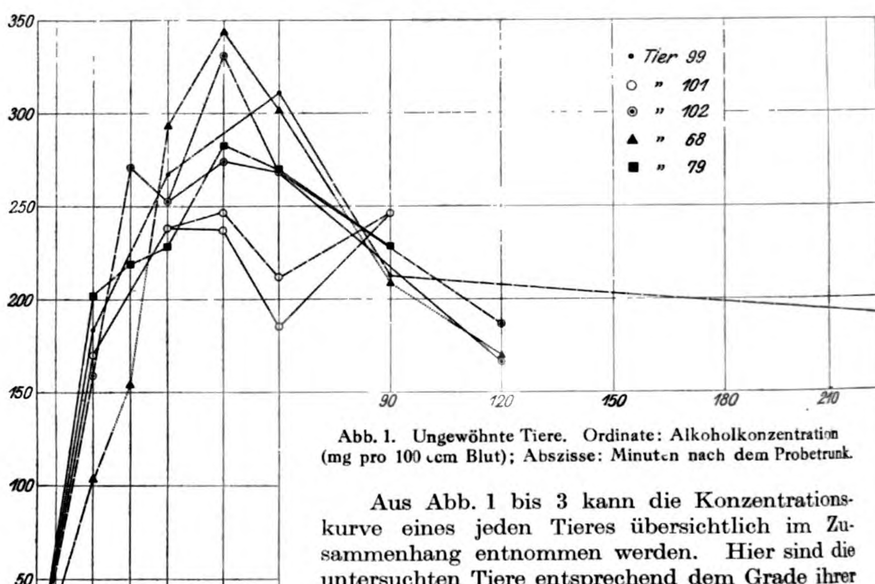



Abb. 1. Ungewöhnte Tiere. Ordinate: Alkoholkonzentration (mg pro 100 ccm Blut); Abszisse: Minuten nach dem Probetrunk.

Aus Abb. 1 bis 3 kann die Konzentrationskurve eines jeden Tieres übersichtlich im Zusammenhang entnommen werden. Hier sind die untersuchten Tiere entsprechend dem Grade ihrer Gewöhnung in vollständig ungewöhnte Tiere (Abb. 1), in mäßig gewöhnte (1 bis $2\frac{1}{2}$ Monate gewöhnt; Abb. 2) und stark gewöhnte (mit einer Gewöhnungsperiode von über 3 bis 8 Monaten; Abb. 3) gruppiert.

Während in diesen drei Kurven hauptsächlich das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Tiere sowie des gleichen Tieres an verschiedenen Tagen[1]) gezeigt werden sollte, soll Abb. 4 die *sämtlichen* bei der Untersuchung gewonnenen *Einzelzahlen* zusammenstellen. In ihr sind daher die Zahlen aller drei Tiergruppen vereinigt, auch alle bei einzelnen Entnahmen gewonnenen, nicht zu einer kontinuierlichen Kurve verknüpfbaren Zahlen mit aufgenommen und auch die Einzelwerte einer jeden Blutkurve bei Doppelentnahmen, soweit sie nicht genau zusammenfielen, getrennt eingetragen. Dabei zeigt sich, daß nur selten die genaue Übereinstimmung

---

[1]) Die Kurven für die einzelnen Tiere wurden zum Teil aus der fortlaufenden Untersuchungsreihe eines Alkoholtages gewonnen, zum Teil aus mehreren Kurvenbruchstücken zusammengesetzt, die an verschiedenen Tagen gewonnen wurden. Wo dies letztere der Fall war, ist es in der graphischen Darstellung ausdrücklich hervorgehoben; diejenigen Teile jeder Kurve, die sich auf zusammengehörige, von dem gleichen Tage stammende Zahlen beziehen, sind, unter Umständen in einer zweiten Nebenkurve, in besonderer Zeichnung gehalten. Diejenigen Tiere, bei welchen wir nur über eine oder wenige Zahlen verfügen, haben wir nicht in diese drei Abbildungen mit aufgenommen; sie sind aber in Abb. 4 zu finden.

solcher Doppelentnahmen zu vermissen war. Wo dieselben doch merklich voneinander abweichen, braucht dies nicht unbedingt gegen die Genauigkeit der Bestimmung zu sprechen; zur Erklärung kann auch der etwas größere Zeitabstand zwischen den beiden Entnahmen herangezogen werden. Dieser Zeitabstand betrug nicht selten bis zu 5 Minuten, und der steile An- oder Abstieg mancher Bereiche auch der Konzentrationskurve desselben Tieres (vgl. Abb. 1 bis 3) zeigt ja bereits, daß beträchtliche Änderungen der Blutkonzentration auch im Verlauf von wenigen Minuten sehr wohl statthaben können.

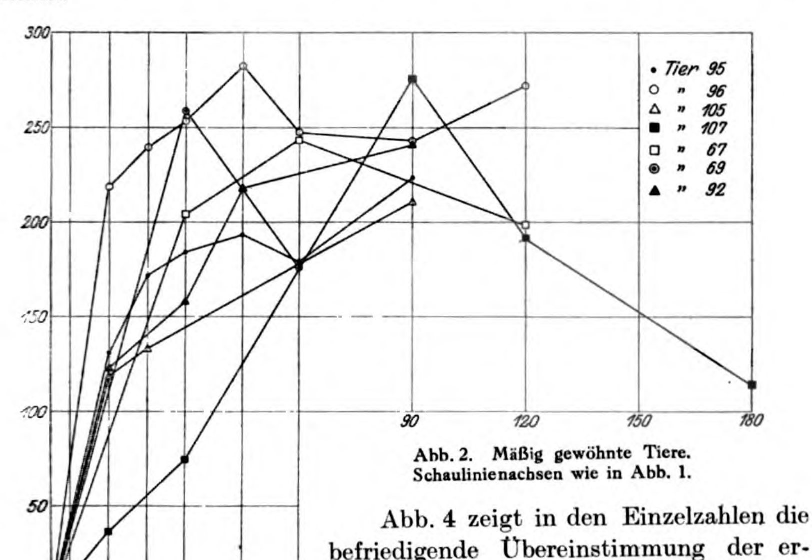



Abb. 2. Mäßig gewöhnte Tiere. Schaulinienachsen wie in Abb. 1.

Abb. 4 zeigt in den Einzelzahlen die befriedigende Übereinstimmung der ermittelten Blutalkoholwerte. Diese Einzelwerte sind dann zur Darstellung der *Streuungsbreite* für jede der drei Tiergruppen verwendet und zu diesem Zwecke in drei verschieden dargestellte Streuungsstreifen vereinigt worden. Abb. 4 wurde schließlich noch dazu benutzt, um auf ihr zum Vergleich die von *Schweisheimer* am Menschen gewonnenen Blutalkoholzahlen, in analoger Weise dargestellt, unseren Befunden gegenüberzustellen. Es sei allerdings hier gleich hervorgehoben, daß diese Zahlen einem nur halb so alkoholreichen Probetrunk entstammen, daß also nicht die Höhe dieser Kurven, sondern nur die Form zum Vergleich herangezogen werden darf.

## Ergebnisse.

Der erste Eindruck ist der einer sehr beträchtlichen *Schwankungsbreite* der Alkoholkonzentration im Blute aller unserer Tiere. Auch unter den von uns eingehaltenen, eine besondere Einheitlichkeit anstrebenden Versuchsbedingungen, insbesondere auch trotz der kurz-

fristig und damit besonders gleichmäßig erfolgenden Einfüllung der stets gleichen Alkoholdosis und -konzentration in den Magen differieren die einzelnen Werte auch bei dem einheitlichen Tiermaterial bedeutend.

Keineswegs regelmäßig trifft der Satz zu, den *Grehant* aufgestellt hat und der sich am besten durch die Formel $c = \frac{v}{10}$ ausdrücken läßt[1]). Nur ein kleiner Bruchteil der von uns gefundenen Maximalwerte kommt

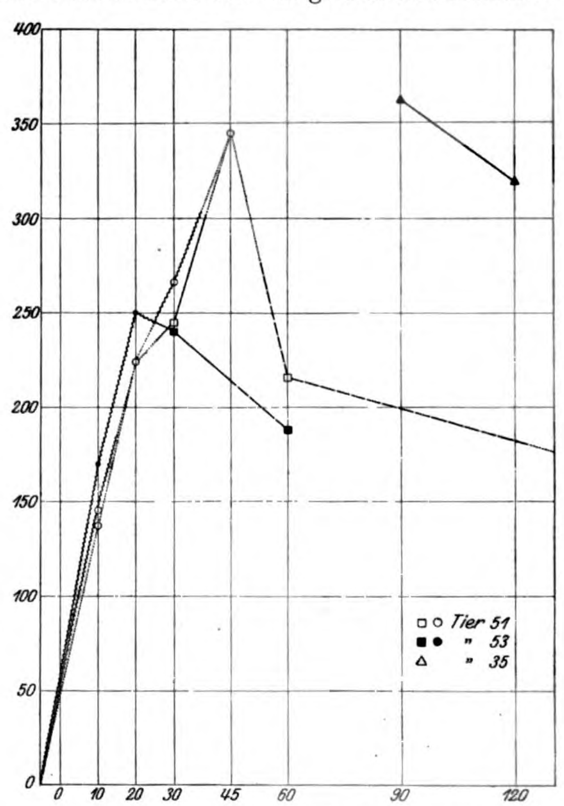



Abb. 3. Stark gewöhnte Tiere. Schaulinienachsen wie in Abb. 1.

an die diesem Satz zufolge nach unserer Darreichung von 3 ccm pro Kilogramm zu erwartende Konzentration von 0,3 g pro 100 ccm heran. Diese wenigen, mit *Grehants* Forderung übereinstimmenden Zahlen sind Abweichungen nach oben. Sie werden übrigens nur von einer Anzahl der gewöhnten Tiere erreicht. Alle ungewöhnten Tiere bleiben niedriger, zum Teil sehr bedeutend.

[1]) Worin $c$ die im Blute wiederzufindende Höchstkonzentration (Gramme Äthylalkohol pro 100 ccm), $v$ die pro Kilogramm dargereichte Zahl von Kubikzentimetern absoluten Alkohols bedeutet.

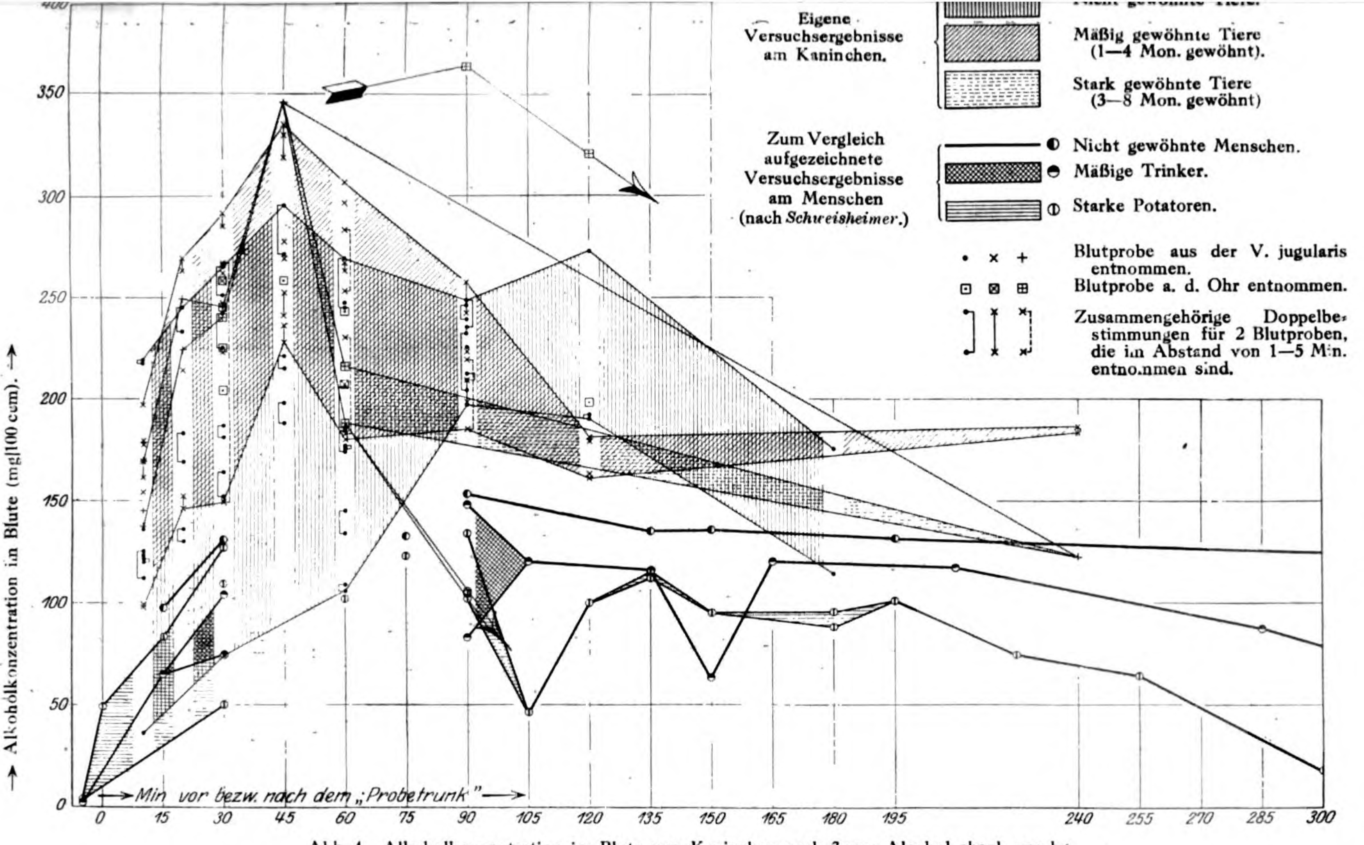



Abb. 4. Alkoholkonzentration im Blute von Kaninchen nach 3 ccm Alcohol absol. pro kg.
(Vergleichskurven: Alkoholkonzentration im Blute von Menschen nach 1,5 ccm Alcohol absol. pro kg.)

Es findet sich freilich eine einfache Erklärung für dieses Verhalten: Die *Allgemeingültigkeit* jenes Satzes ist längst widerlegt. Die Höhe der Alkoholkonzentration im Blute hängt nicht nur von der dargereichten Menge absoluten Alkohols, sondern, auch abgesehen von der Resorptionsweise, von der dargereichten Konzentration ab. Nun ist aber gerade in unseren Versuchen die Konzentration recht niedrig gewählt worden. Allerdings zeigen auch die *Schweisheimer*schen Zahlen das gleiche. *Schweisheimer* hat den Alkohol in merklich höherer Konzentration dargereicht, allerdings die Einverleibung nicht auf einmal vorgenommen, sondern über eine halbe Stunde hingezogen. Und auch bei ihm ist die verlangte Blutkonzentration von 0,15 g pro 100 ccm nur ausnahmsweise erreicht worden.

Auch ein zweites Ergebnis mancher früheren Erfahrungen wird durch unsere Versuche nicht bestätigt. Das „*plateauförmige*" Maximum der Konzentrationskurve tritt in unseren Kurven nirgends deutlich hervor. Viel eher ist unseren Kurven eine zuweilen recht scharfe Gipfelzacke zu entnehmen. Dieser Gipfel liegt für alle drei Gewöhnungsgrade in der Gegend der 45. Minute nach der Aufnahme des Probetrunkes. Mit anderen Worten: Wenn die Resorption, wie bei unserer Versuchsanordnung, von einem scharf umschriebenen Zeitpunkte einmaliger Einverleibung ihren Ausgang nehmen kann, so wird nicht ein über große Teile der ersten beiden (nach *Grehant* der ersten 5!) Stunden sich erstreckendes, sondern ein frühzeitig und recht steil erreichtes und in ziemlich schnellem Kurvenabfall wieder verlassenes Maximum der Blutkonzentration erzielt. Das muß besonders hervorgehoben werden in Ansehung der *Schweisheimer*schen Untersuchung. Dieser Autor ist offenbar allzusehr von der Voraussetzung des *Grehant*schen „Plateaus" ausgegangen; er hat daher, wie wir durch unsere Darstellungsweise seiner Kurven besonders deutlich machen können, einen nicht unbeträchtlichen und vielleicht für die Gesamtbewertung seiner Resultate maßgeblichen Zeitraum vernachlässigt. Für die Zeit zwischen der 30. und 90. Minute finden sich bei ihm nur äußerst wenige, in ihrer Gesamtheit völlig unzureichende Belegzahlen. Wir haben daher für diesen Zeitraum seine Kurven nicht ausgezogen. Beachtet man diese Lücke, zumal in der Nebeneinanderstellung mit unseren Kurven, so wird ersichtlich, daß die Maxima seiner Kurven vielleicht gerade in diesem Zeitraum zu finden wären. Viel besser ist in diesem Punkte unsere Übereinstimmung mit den beiden von *Pringsheim* ermittelten Konzentrationskurven des Kaninchens. Auch bei ihm fehlt nämlich das *Grehant*sche Plateau wenigstens bei dem nicht gewöhnten Tiere, und dessen ziemlich scharfes Maximum ist nach spätestens einer Stunde (zu früheren Zeitpunkten hat auch er keine Bestimmung im Blute ausgeführt) erreicht. Auch für den Gesamtgehalt des Körpers (Ratte, *Pringsheim*) liegt das Maximum übrigens in dem Zeitraum bis spätestens zum Ende der zweiten Stunde (auch hier fehlt eine Bestimmung in dem vorausgehenden Zeitraum).

Wenn in unseren Kurven überhaupt die Andeutung einer Plateaubildung gefunden werden soll, so ist das — gerade umgekehrt wie bei *Pringsheim* — höchstens bei den nicht gewöhnten Tieren der Fall. Bei ihnen liegt allerdings die Alkoholkonzentration im Blute nach 90 Minuten noch recht hoch, und auch nach 120 Minuten wird in einem Falle noch annähernd die Höchstkonzentration vorgefunden, in keinem Falle zwei Drittel der höchsten, überhaupt bei unseren ungewöhnten Tieren erreichten Konzentration unterschritten.

Über den Endteil der Konzentrationskurven läßt sich unseren Bestimmungen keine Aussage entnehmen; absichtsgemäß wurden sie nicht über die vierte Stunde ausgedehnt, und auch für die dritte und vierte Stunde haben wir nur wenige Bestimmungen ausgeführt. Wir können nur sagen, daß um diese Zeit meist noch über die Hälfte der Höchstkonzentration zu finden ist.

Die *Unterschiede zwischen gewöhnten und ungewöhnten Tieren* sind also einerseits in der absoluten Höhe des *Gipfelwertes*, andererseits in der Art des *An- und Abstiegs* um denselben herum zu suchen.

Die Höhe der *Gipfelwerte* scheint schon beim ersten Blick auf die Abb. 4 durchschnittlich *größer* bei gewöhnten als bei ungewöhnten Tieren.

Betrachtet man den um diese Zeit bestimmten Höchstwert der 106 Tage gewöhnten („stark gewöhnten“) Tiere, so gewinnt man sogar den Eindruck, als nehme der Höchstwert proportional mit steigender Gewöhnung zu. Doch tritt bei genauerer Betrachtung unserer Werte doch eine so enge Beziehung nicht hervor. Ordnet man z. B. die Werte der gewöhnten Tiere für die 45. Minute in der Reihenfolge der Gewöhnungstage, so bilden sie folgende keineswegs gleichmäßig ansteigende Reihe:

| mg pro 100 ccm: | 232, 269, | 242, 326, | 339, | 277, | 345, |
|---|---|---|---|---|---|
| Gewöhnungstag: | 33 | 44 | 56 | 66 | 106. |

Ebenso für die 30. Minute:

| 235, 248, | 262, | 258, | 290, 223, | 265, 240, | 265, |
|---|---|---|---|---|---|
| 33 | 44 | 63 | 64 | 66 | 109; |

oder für die 60. Minute:

| 305, 180, 263, | 207, | 296, | 207, | 265, |
|---|---|---|---|---|
| 33 | 44 | 56 | 63 | 64. |

Dem stehen als *Höchstwerte* zu den gleichen Zeiten für die ungewöhnten Tiere gegenüber: 295 bzw. 263 bzw. 269, also nur zum Teil niedriger liegende Werte. Immerhin sind die *Durchschnittswerte* der ungewöhnten Tiere für die gleichen Zeitpunkte: 238 bzw. 190 bzw. 193, so daß in der Tat *alle* Werte der gewöhnten Tiere *höher* liegen, mit Ausnahme von nur je einer Bestimmung in der 45. und 60. Minute, welche beide einem *früheren* Gewöhnungstage entstammen.

Der Zeitpunkt, an dem bei den gewöhnten Tieren dieser Gipfelwert erreicht ist, ist — mit wenigen unsicheren Ausnahmen — die 45. Minute. Häufiger, selbst bei genauer Verfolgung der Kurve eines einzelnen Probetrunkes, sind die Ausnahmen hiervon bei den ungewöhnten Tieren. Während bei einem einzigen von ihnen das Maximum vielleicht bereits vor der 45. Minute liegt, ist doch eine größere Anzahl von ihnen in den ersten 45 Minuten noch nicht auf ihrem Maximum angelangt. Wäre also schon beim Zusammenfallen des Zeitpunktes des Maximums ein *steilerer Anstieg* für die gewöhnten Tiere erwiesen, so noch mehr, wenn ein Teil der ungewöhnten Tiere ein *niedrigeres* Maximum erst nach *längerer* Zeit erreicht.

Eine Ausnahme macht nur ein einziges stark gewöhntes Tier (Nr. 35). Es weist ganz einzig dastehende hohe Werte nach 1 ½ bis 2 Stunden auf. Will man nicht annehmen, daß sein Gipfelwert schon viel früher erreicht war, so hat man hier an einen langsameren Anstieg zu denken. Es handelt sich aber um den Sonderfall eines besonders schwer geschädigten Tieres, wie aus dem Gewichtssturz vor dem Probetrunk hervorgeht.

Auch der Abstieg vollzieht sich bei den gewöhnten Tieren, ganz wie der Anstieg, steiler als bei den ungewöhnten Tieren. Das gilt wenigstens für den auf den Gipfelpunkt enger folgenden Kurvenabschnitt. Während späterhin aus unseren Versuchen keine deutlichen Unterschiede zu entnehmen sind, und in allen Fällen, unabhängig vom Gewöhnungsgrade, zwischen der ersten und zweiten Stunde 0,2 Proz. kaum merklich unterschritten werden, bedeutet doch der Abfall bis dahin an sich schon für die zuvor höher gestiegenen Kurven gewöhnter Tiere eine steilere Änderung als für die plateauähnlichere Kurve der ungewöhnten.

Auch hier ist Tier 35, das nach 2 Stunden noch das Maximum der stärkst gewöhnten Tiere kaum über sich gelassen hat, eine augenfällige Ausnahme. Gerade unter den stark gewöhnten Tieren findet sich aber auch der entgegengesetzte Fall eines ganz besonders steilen und tiefen Abfalls, der also, beweisender als das Verhalten des „übergewöhnten" Tieres 35, das schnellere Absinken bei den gewöhnten Tieren veranschaulicht.

Wir wollen uns hier darauf beschränken, ausschließlich diese augenfälligen Ergebnisse unserer Bestimmungen wiederzugeben, ohne weitergehende Schlüsse daraus zu ziehen. Wir können dann feststellen, daß nach unseren Bestimmungen das Verhalten gewöhnter Kaninchen mit denjenigen gewöhnter Hunde recht gut übereinstimmt.

Nach Bestimmungen von Konzentrationskurven im Blute dieser Tiere haben *Balthazard* und *Larue* einen wesentlichen Unterschied zwischen gewöhnten und nicht gewöhnten Tieren nicht feststellen können. Und auch die Untersuchungen von *Völtz* und *Dietrich* am Hunde, die freilich sich nicht mit der Konzentration im Blute beschäftigen, sind damit im Einklang: nach ihnen besteht in der Verbrennungsgeschwindigkeit kein deutlicher

Unterschied zwischen gewöhntem und ungewöhntem Hund[1]). In Übereinstimmung mit unserer Beobachtung steht auch die andere Feststellung dieser beiden Autoren, daß der gewöhnte Hund den Alkohol schneller resorbiert als der ungewöhnte.

**Zusammenfassung.**

1. Das bisher für das Kaninchen nur ungenügend studierte Verhalten der Alkoholkonzentration im Blute wird nach einem Probetrunk an vier stark (3 bis 8 Monate), sechs mäßig (33 bis 82 Tage) und zwölf nicht gewöhnten Tieren untersucht. Dabei wird hauptsächlich auf das Verhalten der Konzentrationskurven im Blute *während der ersten beiden Stunden* Gewicht gelegt, da dieser Zeitraum von einer Reihe früherer Untersucher auch an anderen Tierarten vernachlässigt ist.

2. Ein deutlicher Unterschied zwischen gewöhnten und ungewöhnten Kaninchen wird in diesem Zeitraum vermißt. *Die Alkoholkonzentration im Blute der gewöhnten Tiere fällt nahezu vollständig in den breiten Streuungsbereich der ungewöhnten Tiere.*

3. Sowohl gewöhnte wie ungewöhnte Tiere erreichen nach kurzfristiger Sondenfütterung einer mittleren Alkoholgabe in mäßiger Verdünnung (3 ccm Alc. abs. pro Kilogramm in 6proz. Lösung) *die Höchstkonzentration im Blute um die erste halbe Stunde.*

4. Die Konzentrationskurve gewöhnter Tiere steigt durchschnittlich zu einem etwas höheren Maximum und sinkt bald darauf gegen die untere Grenze des Streuungsbereichs ungewöhnter Tiere hin, sie ist also durch ein wenig steileren Anstieg und Wiederabfall ausgezeichnet.

5. Eine *schnellere Verbrennung* beim gewöhnten Tiere kann daher aus der Lage der Maxima des Alkoholspiegels im Blute beim Kaninchen nicht erschlossen werden, dagegen bestätigt sich auch für das Kaninchen, daß gewöhnte Tiere eine etwas *größere Resorptionsgeschwindigkeit* aufweisen.

---

[1]) Wenn *Kochmann* (l. c., S. 371) daraus, daß die verbrannten Alkoholmengen gewöhnter und ungewöhnter Hunde um *wenige Prozente* differieren, auf deutlich größere Verbrennungsgeschwindigkeit schließen will, so steht er im Widerspruch mit den beiden Verfassern selbst, die ausdrücklich diesen Schluß ablehnen.

# Über die
# Anhäufung und Bildung des Harnstoffs in Champignons.

Von

**Nicolaus N. Iwanoff.**

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität zu Petersburg.)

*(Eingegangen am 10. September 1923.)*

Die Physiologie der höheren Pilze ist bisher sehr wenig bearbeitet worden; es existieren sehr wenige Angaben über die Stoffumwandlung beim Wachsen und Reifen der Hutpilze. Dabei sind Versuche mit diesen Pilzen viel leichter anzustellen, als mit niederen, z. B. Schimmelpilzen, an denen zahlreiche Untersuchungen ausgeführt werden. Das kommt daher, daß die heutige Physiologie die Anwendung reiner Kulturen von Organismen bei Untersuchung der Stoffumwandlung erfordert. Die Methodik für die Zucht der höheren Pilze unter sterilen Bedingungen ist noch sehr schwierig, schon deshalb, weil uns die Keimungsbedingungen der Sporen dieser Pilze unbekannt sind. Es wird indessen schon vielfach versucht, sie künstlich hervorzutreiben: wir brauchen nur an die zahlreichen Arbeiten von *Duggar*[1]) auf diesem Gebiete zu erinnern. Die Schwierigkeit, reine Kulturen von Hutpilzen zu erzeugen, veranlaßt uns, sie unter gewöhnlichen natürlichen Verhältnissen zu untersuchen. Meine Versuche über die Umwandlung des Harnstoffs während des Reifens der Fruchtkörperchen von Staubpilzen (Lycoperdone) und über die Bildung des Harnstoffs in denselben aus von außen eingeführtem Ammoniak[2]) haben erwiesen, daß man die Hutpilze für vergleichende physiologische Versuche verwenden kann.

Es ist mir gelungen zu zeigen, daß die Harnstoffmenge im Fruchtkörperchen des Pilzes veränderlich erscheint: sie vermehrt sich dem Wachstum des Fruchtkörperchens entsprechend, erreicht das Maximum im Augenblick der Sporenreife und nimmt in den Stäublingssporen selbst ab. Aus den Versuchen geht zweifellos hervor, daß die Harnstoffsynthese aus Ammoniak stattfindet, und daß bei dessen Bildung während erhöhten Atmungsprozesses eine große Menge stickstofflosen Materials verbraucht wird. Als bei den Bedingungen, unter denen ich meine Versuche vornahm, d. h. als ein Eindringen der Nährstoffe von außen unterbrochen war, in den vom Mycel entfernten Pilzen eine Harnstoffanhäufung stattfand, so wäre es natürlich gewesen, zu erwarten, daß im Fruchtkörper stets merkliche Mengen entweder von Ammoniak oder von Ammoniumsalzen

---

[1]) *B. M. Duggar*, Bureau of Plant Industry, Bull. 85, 1905.

[2]) *N. Iwanoff*, Journ. de la Soc. bot. de Russie **2**, 129, 1917; diese Zeitschr. **135**, 1, 1923; **136**, 1, 9, 1923.

anwesend wären. Aber in Wirklichkeit erwies es sich anders: der Harnstoff bildete sich aus Ammoniak, das sich aber von komplizierteren Verbindungen allmählich abspaltete. Es wurde *öfters* beobachtet[1]), daß während des Reifens des Stäublings die Menge des Harnstoffstickstoffs zunahm, die Menge der Aminogruppen dagegen abnahm. Auf Grund solcher Versuche konnte man jedoch noch nicht mit Bestimmtheit behaupten, daß der Harnstoff auf Kosten der Aminosäuren entsteht, da beim Reifungsprozeß und bei der Sporenbildung die Abnahme der Aminosäuren mit ihrer Umwandlung in Eiweißstoffe, welche sich in den Sporen ablagern, zusammenhängen konnte. Besonders diese Erwägung muß man stets bei der Untersuchung der Fruchtkörper von Stäublingen, in welchen die Gewichtsmenge der Sporen sich bis auf 75 Proz. beläuft, vor Augen haben. Ein anderes Bild erhalten wir, wenn wir uns solchen Harnstoff enthaltenden Hutpilzen zuwenden, bei denen die Sporenmenge im Vergleich zum hohen Gewicht des ganzen Fruchtkörpers nicht sehr groß ist. In Anbetracht dessen habe ich beschlossen, den Harnstoff der Champignons genauer zu untersuchen. Diese Pilze haben den Vorzug, daß man sie im Treibhause züchten kann; zu meiner Verfügung standen vom November bis August Champignons von zwei Mycelen verschiedener Herkunft, von einem kultivierten und von einem aus dem Walde entnommenen.

Die ersten, die Harnstoff bei Champignons vorgefunden haben, waren *Goris* und *Mascré*[2]); in einzelnen Fällen betrug die Menge desselben bis 4,3 Proz. Als aber die Autoren dieselbe unter künstlichen Verhältnissen in der Umgegend von Paris gezüchtete Pilzart untersuchten, fanden sie in keinem Falle Harnstoff vor. Die Autoren nahmen an, daß in beiden untersuchten Fällen die Verschiedenheit durch die Zugehörigkeit der Pilze zu zwei nahen morphologischen Rassen bedingt sei. Es ist mir gelungen zu zeigen[3]), daß Champignons zweier Arten sich durch Harnstoffgehalt sehr stark voneinander unterscheiden:

bei Psalliota campestris bis 6,18 Proz.
bei Psalliota pratensis bis 1,61 „

Bei ein und derselben Art hängt die Harnstoffmenge außerdem vom Alter ab:

bei jungen Exemplaren Psalliota campestris 1,51 Proz. und
bei reifen Exemplaren Psalliota campestris 6,18 „

Im Besitze von im Treibhause gezüchteten Exemplaren, unternahm ich nochmals mehrere Analysen und stellte eine Reihe von Versuchen zur Aufklärung der Bildung und Umwandlung des Harnstoffs in Pilzen an.

Die Bestimmung des Harnstoffs wurde nach der schönen Methode von *Fosse*[4]) ausgeführt; die Pilze wurden bei 30° getrocknet, zu Pulver zerrieben und bis zum konstanten Gewicht bei 105 bis 110° gebracht. Dann

[1]) *N. Iwanoff*, I. (l. c.).
[2]) *Goris* et *Mascré*, C. r. **153**, 1082, 1911; *Goris* et *Costy*, ebendaselbst 1922.
[3]) *N. Iwanoff*, III. (l. c.).
[4]) *Fosse*, C. r. 1912/13; Ann. de l'Institut Pasteur **30**, 1, 1916.

wurde das Pilzmaterial auf dem Wasserbade während ¼ Stunde extrahiert, der Niederschlag filtriert und mit heißem Wasser gewaschen. Dem Filtrat wurden Proben zu 20 bis 30 ccm entnommen, in einer Schale auf dem Wasserbade bis zu 2 bis 3 ccm eingedampft, Essigsäure bis 70 Proz. und zuletzt noch 10proz. alkoholische Xanthydrollösung zugefügt. Der Dixanthylharnstoffniederschlag wurde auf einer Nutsche abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und gewogen, und daraus durch Berechnung der Harnstoff in der Probe und dann im gesamten Anteil bestimmt. Der im Versuche sehr rein erhaltene Dixanthylharnstoff wurde auf Stickstoffgehalt analysiert: die Menge des letzteren näherte sich stets der theoretischen = 6,66 Proz. Es ist von besonderer Wichtigkeit, diesen Umstand zu erwähnen, um Einwendungen zu entgehen, daß die so erzeugten Niederschläge keinen reinen Dixanthylharnstoff darstellten.

An einem dunklen Orte im Treibhause waren zwei Kisten mit Dünger aufgestellt worden, in welche im Monat Oktober Teile ein und desselben vom Gemüsegärtner erhaltenen Mycels eingesteckt wurden. Schon Anfang Dezember fingen die Pilze an, herauszukommen. Aber trotz der Abstammung von ein und demselben Mycel variierte die Harnstoffmenge in beiden Kisten; die höchsten Prozentsätze betrugen für einzelne Exemplare:

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| in der ersten Kiste: | 1,48 | 1,92 | 2,32 | 2,53 | 2,86 Proz. |
| in der zweiten Kiste: | 3,47 | 3,81 | 3,87 | 3,93 | 4,12 „ |

Offenbar waren die Verhältnisse der Stickstoffernährung in der zweiten Kiste bedeutend günstiger.

Aus der ersten Kiste wurden Exemplare von drei verschiedenen Altersstufen entnommen: 1. junge kugelartige, 2. junge mit noch nicht geplatztem Häutchen unter der Hymenschicht, und 3. reife. In diesen wurde die Harnstoffmenge bestimmt.

*Versuch 1.*

Drei Altersstufen der Fruchtkörper eines Kulturmycels:

| Nr. | Altersstufe | Exemplare | Rohgewicht g | Trocken-gewicht g | Harnstoff mg | Harnstoff auf Trocken-gewicht Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Junge . . . . . . | 2 | 2,9 | 0,3147 | 4,66 | 1,48 |
| 2 | Mittlere . . . . . . | 2 | 12,1 | 1,2904 | 24,70 | 1,92 |
| 3 | Reife . . . . . . . | 1 | 24,8 | 1,9383 | 55,34 | 2,86 |

Wie in meinen früheren Versuchen, wurde auch hier eine Zunahme des Harnstoffs mit der Reifung beobachtet.

Im Monat April 1923 fingen die Champignons aus dem im September 1922 eingesteckten Waldmycel an, herauszukommen, auf einem großen Düngerhaufen im Universitätstreibhause. Zur Harnstoffbestimmung wurden vier Altersstufen gewählt; es zeigte sich eine ungeheure Harnstoffanhäufung in reifen Pilzen. Sie betrug bis 12,36 Proz.

*Versuch 2.* Vier Generationen Fruchtkörper von verschiedenem Alter aus dem Waldchampignonmycel:

| Nr. | Altersstufe | Exemplare | Trockengewicht g | Harnstoff mg | Harnstoff Proz. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Ganz junge . . . . . . | 4 | 0,1728 | 4,44 | 2,57 |
| 2 | Junge . . . . . . . . . | 1 | 0,3205 | 10,91 | 3,40 |
| 3 | Zu reifen anfangende . | 1 | 1,7090 | 98,27 | 5,75 |
| 4 | Reife . . . . . . . . . | 1 | 1,3351 | 165,00 | 12,36 |

In alten reifen Exemplaren erreichte die Harnstoffmenge den Wert von 12,36 Proz., ein Rekord selbst im Vergleich zu den harnstoffreichen Stäublingen.

Es wurden dann Versuche mit Fruchtkörperchen angestellt, um die Umwandlung des Harnstoffs und überhaupt stickstoffhaltiger Substanzen während des Reifens der Champignons zu verfolgen.

Schon früher habe ich gezeigt, daß mit dem Reifen der Stäublinge die Harnstoffmenge in denselben zunimmt. In den Versuchen an vom Mycel entfernten Stäublingen, die also der Möglichkeit einer Einwanderung der Nährstoffe von außen beraubt sind, fand eine Neubildung des Harnstoffs aus irgendwelchen komplizierten stickstoffhaltigen Verbindungen statt. Aber in völlig reifen Exemplaren verschwand der Harnstoff und setzte sich in den Sporen höchstwahrscheinlich in Form von Eiweißstoffen ab. Die Untersuchung der Champignons bewies, daß vollständig reife, ja selbst alte Pilze Harnstoff in großen Mengen bis zu 13,19 Proz. enthalten. Ferner, daß während des Reifens der Champignons autolytische Prozesse stattfinden, bei denen Eiweißstoffe und wahrscheinlich auch Chitin gespalten werden, aus deren Zerfallsprodukten durch Oxydationssynthese Harnstoff gebildet wird.

*Versuch 3.*

Ein reifes Exemplar Champignon wurde mit dem Stiele auf 2 Tage ins Wasser gesetzt, vorher wurde ein Viertel des Hutes ausgeschnitten und gleich getrocknet, während der übrige Teil (drei Viertel) nach 2 Tagen getrocknet wurde.

In gewöhnlicher Weise wurde im Filtrat Stickstoff und Harnstoff bestimmt.

| | 1. Kontrolle | 2. Versuch |
|---|---|---|
| Trockengewicht der Anteile . . | 0,4450 g | 1,0631 g |
| N des Restes nach Auswaschen mit Wasser . . . . . . . . . . | 18,87 mg | 37,39 mg |
| N des Filtrats . . . . . . . . . | 35,61 „ | 97,47 „ |
| Harnstoff . . . . . . . . . . . . | 13,14 „ | 137,01 „ |
| Proz. Harnstoff auf Trockengewicht des Pilzes . . . . . . | 9,69 Proz. | 12,89 Proz. |
| $\frac{\text{N des Restes}}{\text{N des Filtrats}}$ . . . . . . . . . | $\frac{18,87}{35,61}$ = 53 Proz. | $\frac{37,39}{97,47}$ = 38,4 Proz. |
| $\frac{\text{N-Harnstoff}}{\text{N-Filtrat}}$ . . . . . . . . . . | $\frac{20,13}{35,61}$ = 56 „ | $\frac{63,88}{97,41}$ = 65,54 „ |
| $\frac{\text{N-Harnstoff}}{\text{N ganzer Anteil}}$ . . . . . . . . . | $\frac{20,13}{54,48}$ = 36,9 „ | $\frac{63,88}{134,86}$ = 47,4 „ |

Die Praxis zeigte, daß das Aufbewahren der Pilze während 2 bis 3 Tagen ohne jegliche Gefahr einer Injektion mit Mikroorganismen vollständig möglich ist. Champignons, welche mit dem Stiel ins Wasser gesetzt wurden, blieben ganz gesund am Leben und trockneten nicht ein. Aus dem dritten Versuche ist zu ersehen, daß der Harnstoffprozentsatz im Versuchsanteil von 9,69 auf 12,89 gestiegen, daß dagegen eine Abnahme des Stickstoffs im unlöslichen Reste vom Anteil nach der Extraktion mit heißem Wasser bemerkbar ist. Dies ist daraus ersichtlich, daß das Verhältnis des Reststickstoffs zum Filtratstickstoff im Kontrollanteil (1) gleich 53,0 Proz. und im Versuchsanteil (2) gleich 38,4 Proz. ist. *In diesem Versuche fällt auf, daß 65,5 Proz. des Filtratstickstoffs auf Harnstoff kommen; berechnet man aber die Menge dieses Stickstoffs auf den ganzen Stickstoff des Anteils, so ergeben sich 47,4 Proz., mit anderen Worten, beinahe das halbe Gewicht des Stickstoffs im Pilze kommt auf den Harnstoffstickstoff.* Hierbei kann man von einer Harnstoffausartung des Pilzes sprechen.

*Versuch 4.*

Zwei nicht große junge Champignonexemplare wurden zum Versuche gewählt. Von jedem Hute wurde ein Drittel entnommen und gleich getrocknet; der erste Kontrollanteil wog 0,5916 g. Die übriggebliebenen Fruchtkörper wurden mit dem Stiele ins Wasser gesetzt; nach 4 Tagen wurden von demselben die Hutreste abgeschnitten und bis zu konstantem Gewichte getrocknet. Der zweite Versuchsanteil wog 1,1717 g. Die gepulverten Anteile 1 und 2 wurden in gewöhnlicher Weise auf dem Wasserbade extrahiert, im Filtrat und im Rest wurde der Stickstoff bestimmt.

| | 1. Kontrolle | 2. Versuch |
|---|---|---|
| Trockengewicht . . . . . . . . . . | 0,5916 g | 1,1717 g |
| N des Restes nach Auswaschen mit Wasser . . . . . . . . . . | 26,35 mg | 41,78 mg |
| N im Filtrat . . . . . . . . . . | 38,0 „ | 100,9 „ |
| Harnstoffmenge . . . . . . . . . | 29,28 „ | 87,11 „ |
| Proz. Harnstoff auf Trockengewicht des Pilzes . . . . . . | 4,94 Proz. | 10,86 Proz. |
| Harnstoff-N im ganzen Pilze . . | 40,65 mg | 89,36 mg |
| N nach *van Slyke* im ganzen Pilze | 25,2 „ | 14,4 „ |

Neben der Zunahme des Harnstoffs und Abnahme des Aminostickstoffs nach *van Slyke* nimmt die Stickstoffmenge der in Wasser unlöslichen Pilzreste merklich ab.

| | 1. Kontrolle | 2. Versuch |
|---|---|---|
| $\frac{\text{N-Rest}}{\text{N-Filtrat}}$ . . . . . . . . . . . | $\frac{26,35}{38,0}$ = 69,3 Proz. | $\frac{41,78}{100,9}$ = 41,4 Proz. |
| $\frac{\text{N-Harnstoff}}{\text{N-Filtrat}}$ . . . . . . . . . . . | $\frac{13,66}{38,0}$ = 35,9 „ | $\frac{59,37}{100,9}$ = 58,8 „ |
| $\frac{\text{N-Harnstoff}}{\text{N ganzer Anteil}}$ . . . . . . . . . . . | $\frac{13,66}{64,35}$ = 21,2 „ | $\frac{59,37}{142,86}$ = 41,6 „ |

Im Versuche 4, wie auch im Versuche 3, tritt die ungeheure Menge Harnstoffstickstoff im Vergleich zum Filtratstickstoff, nämlich 58,8 Proz., und zum Gesamtstickstoff, nämlich 41,6 Proz., hervor.

Im folgenden Versuche wurde außer den Aminogruppen noch der Ammoniakstickstoff bestimmt.

*Versuch 5.*

Ein unreifer Champignon von mittlerer Größe wurde der Länge nach in zwei gleiche Teile zu je 8,7 g zerschnitten.

Der erste Anteil wurde getrocknet und pulverisiert; Trockengewicht 0,8239 g.

Der zweite Anteil wurde mit dem Stiele ins Wasser gesetzt, worin er im Zimmer während 3 Tage blieb; Trockengewicht 0,7672 g. Die Analyse der beiden Hälften auf Stickstoff ergab:

| | 1. Kontrolle | 2. Versuch |
|---|---|---|
| N im unlöslichen Rest . . . . . | 36,44 mg | 26,81 mg |
| N im Filtrat (120 ccm) . . . . . | 49,14 „ | 58,77 „ |
| Harnstoff . . . . . . . . . . . | 41,48 „ | 62,29 „ |
| Proz. Harnstoff auf Trockengewicht . . . . . . . . . . . | 5,03 Proz. | 8,12 Proz. |
| N nach *van Slyke*[1]) . . . . . . | 8,60 mg | 2,96 mg |
| N-Ammoniak . . . . . . . . . . | Spuren | Spuren |

Im Filtrat des ersten Anteils Harnstoff-N . . . 39,35 Proz.
N nach *van Slyke* . . . . . . . . . . . . . . . 19,53 „
Im Filtrat des zweiten Anteils Harnstoff-N . . . 49,41 „
N nach *van Slyke* . . . . . . . . . . . . . . . 5,04 „

Im Versuch 5 kann man besonders gut die Umwandlung der Stickstoffarten beim Reifen des Pilzes beobachten, da für den Versuch zwei dem Gewichte nach ganz gleiche Teile genommen waren. Aus der Abnahme des im Wasser unlöslichen Stickstoffes von 36,44 auf 26,81 mg ist zu ersehen, daß während des Reifens der Sporen ein autolytischer Prozeß vor sich geht, der eine Spaltung der Eiweißstoffe und des Chitins hervorruft. Die dabei entstehenden Aminosäuren und Glucosamin häufen sich aber nicht an, sondern spalten mit Hilfe der Desamidase Ammoniak ab, welcher dann in Harnstoff übergeht. Daß sich dieses so verhält, ist daraus zu ersehen, daß die Menge des Stickstoffs nach *van Slyke* in der Zeit des Reifens abnahm und gar kein Ammoniak sich anhäufte. Die Kontrolle und die Versuchshälfte unterschieden sich dem Aussehen nach in der Farbe: der reifende Versuchsanteil war von beinahe schwarzer Farbe und gab nach der Extraktion mit Wasser ein viel dunkleres Filtrat als der Kontrollanteil.

[1]) Die N-Bestimmung nach *van Slyke* wurde in 30 ccm Filtrat ausgeführt und das Resultat mit 4 multipliziert, ebenso auch bei der Ammoniakbestimmung.

Während des Reifens der Champignons finden, wie ich das auch für die Stäublinge beobachtet habe[1]), Oxydationsprozesse, bedeutender Verbrauch stickstofflosen Materials und gleichzeitige Bildung von Harnstoff statt. Im Versuche 5 waren zwei Pilzhälften zu je 8,7 g gewählt worden. Das Trockengewicht des ersten Anteils, welcher gleich getrocknet wurde, betrug 0,8239 g, das des zweitens Versuchsanteils, welcher nach dreitägigem Reifen getrocknet wurde, nur 0,7672 g, d. h. es fand eine Abnahme der trockenen Substanz um 7 Proz. statt — eine gewöhnliche Erscheinung beim Reifen der Pilze.

Die Umwandlung der Stickstoffarten während des Reifens der Champignons unter den erwähnten Versuchsverhältnissen könnte die Frage entstehen lassen, ob diese Erscheinung eine normale sei; vielleicht finden in vom Mycel entfernten Pilzen pathologische Prozesse statt, welche zu der von uns beobachteten Verteilung der Stickstoffarten führen. Zur Aufklärung dieser Frage wurden aus dem Erdboden völlig reife Pilze genommen und analysiert.

*Versuch 6.*

Zwei nicht große reife Fruchtkörper von Champignons wurden gepulvert und bis zum konstanten Gewicht getrocknet = 0,4400 g. Das Pulver wurde auf dem Wasserbade mit 50 ccm Wasser extrahiert, dann wurde alles abfiltriert und mit heißem Wasser bis zu 100 ccm gewaschen. Zuletzt wurde der Stickstoff im unlöslichen Rest und auch im Filtrat bestimmt.

| | |
|---|---|
| N im unlöslichen Rest . . . . . . . . . . | 13,17 mg |
| N im Filtrat . . . . . . . . . . . . . . | 33,63 „ |
| Harnstoffmenge . . . . . . . . . . . . . | 42,85 „ |
| Proz. Harnstoff auf Trockengewicht . . . | 9,74 Proz. |
| N nach *van Slyke* . . . . . . . . . . . | 1,5 mg |
| N-Ammoniak . . . . . . . . . . . . . . | Spuren |

Im Filtrat kommen von 33,63 mg N

| | | | |
|---|---|---|---|
| auf Harnstoff-N . . . | 19,98 mg | oder | 59,41 Proz. |
| auf N nach *van Slyke* . | 1,5 „ | „ | 4,46 „ |

$$\frac{\text{N-Harnstoff}}{\text{N-Filtrat}} \ldots\ldots\ldots\ldots \frac{19{,}98}{33{,}63} = 59{,}41 \text{ Proz.}$$

$$\frac{\text{N-Harnstoff}}{\text{N ganzer Anteil}} \ldots\ldots\ldots\ldots \frac{19{,}98}{46{,}80} = 42{,}69 \text{ „}$$

In Champignons, die im Erdboden aufgewachsen sind, ist das Verteilungsbild der Stickstoffarten ein eben solches wie in den Anteilen, welche unter den erwähnten Versuchsbedingungen reifen: Massenanhäufung von Harnstoff, geringe Mengen Stickstoff nach *van Slyke* und Abwesenheit von Ammoniak. Die letzte Beobachtung ist besonders wichtig: die Abwesenheit von Ammoniak im mit Harnstoff überfüllten

[1]) *N. Iwanoff*, II, l. c.

Pilze weist auf die Abwesenheit der Ureasetätigkeit im lebenden Champignon hin. *A. R. Kiesel*[1]) hat eine schwache Wirkung der Urease in Champignons beobachtet, als er zu 20 g frisch zerkleinerten Pilzen 0,6589 g Harnstoff zufügte. Nach Verlauf von 73 Stunden waren 2,46 Proz. Harnstoff zerfallen, nach der Menge des abdestillierten Ammoniaks zu urteilen. Es interessierte mich, aufzuklären, ob sich der im Pilze befindliche Harnstoff zersetzen würde, wenn man denselben zu einer Autolyse kommen läßt, d. h. ob die Urease imstande ist, in getöteten Champignons zu wirken. Zur Lösung dieser Frage wurde Versuch 7 angestellt.

*Versuch 7.*

Der Hut eines alten Champignonexemplars (Waldmycel) wurde in zwei gleiche Teile zu je 8,7 g zerschnitten.

Die erste Hälfte wurde zerkleinert und getrocknet, erst bei 28°, dann zu Pulver zerrieben und bis zu konstantem Gewicht — 1,0454 g — bei 110° getrocknet.

Die zweite Hälfte wurde mit 30 ccm Wasser zerrieben und mit Toluol 48 Stunden bei 20° stehengelassen.

Dann wurden beide Anteile mit 50 ccm Wasser auf siedendem Wasserbade erwärmt; im Filtrat wurde der Gesamtstickstoff und auch der Harnstoff bestimmt.

| | Harnstoffmenge mg | Harnstoff auf Trockengewicht Proz. |
|---|---|---|
| 1. Anteil . . . . . . . | 137,98 | 13,19 |
| 2. „ . . . . . . . | 134,72 | 12,89 |

Im ersten Anteil waren im Filtrat . . 93,76 mg N
und Harnstoff-N . . . . . . . . . . . . 64,39 „
d. h. *68,68 Proz. des Filtrat-N kamen auf Harnstoff-N.*

Eine Abnahme der Harnstoffmenge um 3 mg trat zwar ein, aber es ist sehr leicht möglich, daß dieser Zerfall nicht durch die Ureasewirkung erfolgte, sondern unter dem Einfluß des sauren Mediums der zerriebenen Pilzmasse stattfand. Ich habe öfters beobachtet, wie der aus Stäublingen ausgepreßte Saft im Thermostaten mit Toluol während mehrerer Tage stand, ohne daß seine Harnstoffmenge abnahm[2]). Hier habe ich mich überzeugt, daß der Harnstoff im Pilze nicht zerfällt, wo unter normalen Verhältnissen die Harnstoffsynthese stattfindet und wo, wie meine Versuche gezeigt haben, die Neubildung des Harnstoffs durch Einführung von Ammoniak in den Pilz hervorgerufen werden kann. Unwillkürlich tritt der Gedanke auf, daß dieser Prozeß nicht umkehrbar ist. Es ist sehr wichtig, hierzu zu bemerken, daß die Leber — ein Organ, welches bei

[1]) *A. R. Kiesel*, Das Arginin und seine Umwandlungen in Pflanzen, 1916 (russisch).

[2]) *A. Goris* und *P. Costy* (C. r. 1922) nehmen ebenso an, daß bei einigen Pilzen, wie z. B. bei Stäublingen, keine Urease vorhanden ist.

Tieren aus Ammoniak und Kohlensäure Harnstoff erzeugt — nach den Angaben von *Wakemann* und *Dakin*[1]) beim Durchleiten von Harnstoff kein Ammoniak bildet. Durch Anwendung seiner empfindlichen Methode der Harnstoffbestimmung hat *Fosse* mit *Rouchelmann*[2]) gezeigt, daß man in der zerriebenen Hundeleber keine Abnahme des Harnstoffs, sondern sogar eine nach dem Tode stattfindende Bildung desselben beobachten kann, wenn auch in sehr unbedeutender Menge. Wenn aber in der Leber, welche den Harnstoff als Zerfallsprodukt liefert, das Fehlen einer möglichen Harnstoffspaltung verständlich erscheint, wie ist es dann zu erklären, daß in einigen Pilzen etwa die Funktion der Harnstoffspaltung nicht vorhanden ist.

Wenn sich das so verhielte, so müßte man, wie das schon *Fosse*[3]) erwähnte, den Harnstoff auch in den Pflanzen als ein Zerfallsprodukt ansehen; aber solche Fälle kennen wir in der Pflanzenwelt nicht. Andererseits verschwindet die große Harnstoffmenge, welche sich in den Stäublingen bis zum Moment des Reifens anhäuft, mit der Bildung der Sporen und lagert sich dort in Form von komplizierten Verbindungen ab. Wir müssen annehmen, daß es irgend einen Faktor gibt, welcher den Harnstoff spaltet, ehe derselbe als Material zur Synthese der Aminosäuren, des Glucosamins usw. dienen kann. Viel schwerer ist die große Menge Harnstoff in Champignons zu erklären, die mit dem Reifen und Altern des Pilzes sich nicht nur nicht verringert, sondern sogar zunimmt. In Anbetracht der kleinen Menge Sporen bei Champignons ist es mir nicht gelungen, dieselben für eine Analyse anzusammeln. Es ist sehr wahrscheinlich, daß in diesen wie auch in den Stäublingsporen wenig oder gar kein Harnstoff vorhanden ist, daß aber während und nach dem Reifen der Sporen der Champignonhut zur Zeit des Autolyseprozesses gespalten wird und infolgedessen das sich allmählich bildende Ammoniak als Material zur Harnstoffsynthese dient. Zu diesem Zeitpunkt findet sich im Pilze der mächtige Oxydationsapparat, der den Harnstoff aus Ammoniak in Gegenwart von Kohlenhydraten bildet. Die große Anhäufung des nicht ausgenutzten Harnstoffs darf uns nicht in Erstaunen setzen, denn indem wir die Champignons durch künstliche Kultur züchten, stellen wir ihnen eine große und überschüssige Menge von Nahrungsstoffen, besonders stickstoffhaltigen, in Form von Dünger, zur Verfügung. In ähnlichen Fällen einer reichlichen Ernährung entsteht stets ein Stillstand der Reproduktionstätigkeit der Pflanze, und im Champignon wird die Menge der Sporen kleiner, während der Fruchtkörper fortfährt, überschüssigen Stickstoff aus dem Boden zu erhalten und denselben anfangs in Form komplizierter Verbindungen

---

[1]) *A. Wakeman* and *H. Dakin*, Journ. of biol. Chem. **9**, 327, 1911.

[2]) *R. Fosse* et *N. Rouchelmann*, Sur la formation de l'urée dans la foie après la mort. C. r. **172**, 771, 1921.

[3]) *R. Fosse*, Ann. de l'Institut Pasteur **30**, 1, 1916.

anzuhäufen. Im Zeitpunkte der Sporenbildung werden diese Stoffe zersetzt und über Ammoniak in Harnstoff verwandelt; letzterer wird in den Sporen nicht völlig ausgenutzt und bleibt bis zum Lebensende im Pilzhute. Nur durch überschüssige Stickstoffernährung kann man sich jene großen Harnstoffmengen erklären, die wir bei Champignons in künstlicher Kultur beobachten.

Überhaupt erscheint die Stickstoffmenge in den Pflanzen als ein sehr veränderliches Kennzeichen. Selbst in ein und derselben reinen Linie Weizen kann nach meinen Versuchen die Eiweißstoffmenge im Korn von 11 bis 26 Proz. schwanken, je nach den Boden- und Klimaverhältnissen; dies bezieht sich um so mehr auf Saprophyten, welche auf fertigem Nahrungssubstrat leben. Von mir wurde noch der Versuch angestellt, eine Harnstoffanhäufung in getöteten Champignons hervorzurufen. Der Pilz wurde in gleiche Teile geteilt. Die eine Hälfte wurde gleich getrocknet, die andere wurde unter eine große Glasglocke in eine mit Chloroformdämpfen gesättigte Atmosphäre gesetzt; außerdem war auf das Uhrglas, auf welchem die Pilzhälfte lag, auch Chloroform gegossen. Dieser Pilzteil starb schnell ab, verlor den Turgor und färbte sich beinahe schwarz.

*Versuch 8.*

Ein junger Champignon wurde in zwei gleiche Teile zu je 14,75 g geteilt.

Der erste Anteil, gleich getrocknet, wog 1,3413 g.

Der zweite Anteil, 2 Tage unter der Glocke mit Chloroform und danach getrocknet, 1,3144 g.

| | 1. Kontrolle | 2. Versuch |
|---|---|---|
| N im unlöslichen Rest . . . . . | 58,28 mg | 23,03 mg |
| N im Filtrat . . . . . . . . . . | 64,72 „ | 100,00 „ |
| Harnstoff . . . . . . . . . . . . | 51,96 „ | 45,59 „ |
| Proz. Harnstoff auf Trockengewicht . . . . . . . . . . | 3,87 Proz. | 3,47 Proz. |
| $\frac{\text{N-Rest}}{\text{N-Filtrat}}$ . . . . . . . . . . . | $\frac{58,28}{64,72}$ = 90,04 Proz. | $\frac{23,03}{100,00}$ = 23,03 Proz. |

Im zweiten Anteil wurde keine Anhäufung von Ammoniak, dessen Menge nur 2,9 mg betrug, bemerkt, obgleich eine Autolyse des Pilzes stattgefunden hatte und die Stickstoffmenge im unlöslichen Rest von 58,28 auf 23,03 mg gesunken und dementsprechend die Stickstoffmenge im Filtrat gestiegen war. Die Harnstoffmenge war nicht nur nicht gestiegen, sondern sogar gesunken. Offenbar sind diese Verhältnisse der Autolyse des Pilzes nicht mit denen identisch, welche im lebenden Organismus existieren; hier fehlt die Harnstoffsynthese wahrscheinlich darum, weil die Wirkung der Desamidase, die den Aminostickstoff in Ammoniak spalten soll, fehlt. Wie uns aus den Arbeiten *Ehrlichs*[1]) bekannt ist, wirkt die Desamidase nur in lebender Hefe, während sie in getöteter fehlt.

[1]) *Ehrlich,* Bedeutung des Eiweißstoffwechsels für die Lebensvorgänge. Stuttgart 1911.

Der Versuch wurde mit dem Hute eines völlig reifen Pilzes mit einem Harnstoffgehalt bis 10,3 Proz. wiederholt.

*Versuch 9.*

Der Hut eines nicht großen reifen Pilzes wurde in zwei gleiche Teile zu je 3,1 g geschnitten.

Der erste Anteil, gleich getrocknet, wog 0,2966 g.

Der zweite Anteil, nach 2 Tagen unter der Glocke mit Chloroform getrocknet, wog 0,3052 g.

In den Anteilen wurde N und Harnstoff bestimmt.

| | 1. Kontrolle | 2. Versuch |
|---|---|---|
| N im Rest | 11,75 mg | 6,29 mg |
| N im Filtrat | 24,85 „ | 31,80 „ |
| Harnstoff | 30,48 „ | 28,10 „ |
| $\frac{\text{N-Rest}}{\text{N-Filtrat}}$ | $\frac{11,75}{24,85} = 47,3$ Proz. | $\frac{6,29}{31,80} = 19,8$ Proz. |

Das Bild ist dasselbe: eine schroffe Abnahme des Stickstoffs im unlöslichen Reste von 11,75 bis 6,29 mg und eine unbedeutende Abnahme des Harnstoffs.

Ein analoger Versuch wurde noch angestellt, wobei der Aminostickstoff nach *van Slyke* bestimmt wurde.

*Versuch 10.*

Ein nicht großer junger Champignon wurde der Länge nach in zwei gleiche Teile zu je 3,2 g zerschnitten. Der erste Anteil wurde gleich getrocknet, der zweite Anteil nach zweitägigem Verweilen unter der Glasglocke mit Chloroform.

| | 1. Kontrolle | 2. Versuch |
|---|---|---|
| Trockengewicht | 0,2984 g | 0,2945 g |
| N im Rest | 12,07 mg | 6,34 mg |
| N im Filtrat | 16,95 „ | 22,45 „ |
| Harnstoff | 15,43 „ | 15,71 „ |
| N nach *van Slyke* | 2,9 „ | 5,21 „ |
| $\frac{\text{N nach van Slyke}}{\text{N ganzer Anteil}}$ | $\frac{2,9}{29,02} = 10,0$ Proz. | $\frac{5,21}{28,8} = 18,1$ Proz. |
| $\frac{\text{N-Rest}}{\text{N-Filtrat}}$ | $\frac{12,07}{16,95} = 71,2$ „ | $\frac{6,34}{22,45} = 28,24$ „ |

Die Menge des Aminostickstoffs hat von 2,9 bis 5,21 mg, d. h. von 10 bis 18,1 Proz. zugenommen. Indessen hatte im Versuche 5 im lebenden Pilze nach zweitägigem Reifen die Stickstoffmenge nach *van Slyke* von 10 Proz. $\frac{8,6}{85,58}$ bis 3,4 Proz. $\frac{2,96}{85,58}$ abgenommen, aber im letzten Falle hatte parallel mit der Abnahme des Aminostickstoffs die Zunahme des Harnstoffs stattgefunden.

*Versuch 11.*

Ein großes Exemplar Champignon wurde länglich in zwei Teile geschnitten, Teil I 16,0 g, Teil II 16,5 g.

Teil I wurde in einem Gläschen mit 70 ccm Wasser versetzt, Teil II mit 70 ccm 0,5 Proz. α-Alaninlösung *(„Kahlbaum")*. Der Versuch dauerte 4 Tage; das Wasser und die Alaninlösung wurde nach 2 Tagen geändert. Es wurde folgendes Resultat erhalten:

| | 1. Kontrolle | 2. Versuch |
|---|---|---|
| Trockengewicht | 1,2822 g | 1,3167 g |
| N im Rest | 51,34 mg | 56,0 mg |
| N im Filtrat | 86,6 „ | 96,1 „ |
| Harnstoff | 108,6 „ | 126,3 „ |
| Proz. Harnstoff | 8,46 Proz. | 9,59 Proz. |

Auf Kosten des eingesogenen Alanins haben sich 17,7 mg (126,3 bis 108,6) überflüssiger Harnstoff gebildet.

Aus diesem Versuche ersehen wir einen neuen Beweis für die Umwandlung der Aminosäure in Harnstoff.

Betrachten wir nun den Reifungsprozeß der Champignons, so kommen wir zu dem Schlusse, daß im Zeitpunkte der Sporenbildung im Fruchtkörper die Autolyse der Eiweißstoffe und des Chitins stattfindet, die eine Ansammlung des Aminostickstoffs herbeiführt, der dann in Harnstoff übergeht. Wenn die Fruchtkörper mit Chloroform behandelt wurden, so führte die Autolyse zur Zunahme des Aminostickstoffes, wobei aber die Harnstoffmenge durch das Aufhören der Tätigkeit der Desamidase nicht zunahm. Somit findet während der Sporenbildung die Zerstörung des Fruchtkörpergewebes statt, welche bis zu einem gewissen Grade an die Bildung der Geschlechtselemente beim Lachs aus der Muskulatur in den Arbeiten von *Miescher* und *Kossel* erinnert. Die überschüssige Bildung des Harnstoffs in diesem Falle bis zu 13,19 Proz. muß durch reichliche Stickstoffnahrung erklärt werden, welche eine größere Anhäufung komplizierter Stickstoffsubstanzen hervorruft. Während der Autolyse zerfallen die letzteren bis zum Ammoniak, aus dem zusammen mit Kohlensäure der Harnstoff als Vorratsnährstoff entsteht. In früheren Arbeiten habe ich die völlige Ähnlichkeit der Bildungsverhältnisse für Harnstoff und für Asparagin festgestellt; zur Bildung beider Substanzen ist ein mächtiger Oxydationsprozeß sowie auch das Vorhandensein stickstofflosen Materials, das dabei verbraucht wird, nötig. Zurzeit kommt noch nach den oben erwähnten Versuchen ein allgemeines Kennzeichen für ihre Entstehung hinzu — die Gegenwart von Aminosäuren, welche dann in die erwähnten Amide übergehen. Für Asparagin hat das schon längst *E. Schulze*[1]) gezeigt; meine Arbeiten zeigen dasselbe für Harnstoff.

---

[1]) *E. Schulze*, Landw. Jahrb. 25, 621, 1906.

Zum Ende komme ich zu folgenden Schlüssen:

1. Bei künstlicher Zucht kann die Harnstoffmenge in reifen Champignons bis 13,19 Proz. des Trockengewichtes erreichen.

2. Beim Reifungsprozeß finden bis zum Moment der Sporenbildung im Fruchtkörper autolytische Vorgänge statt, welche zur Entstehung des Aminostickstoffes führen, der dann in Harnstoff übergeht.

3. Bei Behandlung des Fruchtkörpers mit Chloroform bleibt der autolytische Prozeß im Stadium der Bildung von Aminosäuren stehen und die Harnstoffmenge nimmt nicht zu.

4. Der hohe Gehalt an Harnstoff in reifen und alternden Pilzen kann eine Erklärung in der überschüssigen Stickstoffernährung, welche die Champignons bei künstlicher Zucht erhalten, finden.

5. Wie für die sekundäre Bildung des Asparagins ein Oxydationsprozeß (nach *Palladin*) und Aminosäuren (nach *E. Schulze*) nötig sind, so sind dieselben Bedingungen auch für die Anhäufung des Harnstoffes in Champignons nötig.

# Über den Einfluß peroraler Einnahme von Glucose auf Blutzucker und Glucurese beim Gesunden.

Von

**Georg Constam.**

(Aus dem Laboratorium der medizinischen Universitäts-Poliklinik, Zürich.)

*(Eingegangen am 13. September 1923.)*

Mit 18 Abbildungen im Text.

Seit *Dobson* und *Pool* im Jahre 1775 auf den süßlichen Geschmack des Serums eines Diabetikers aufmerksam gemacht haben, ist eine große Reihe von Methoden zum Nachweis und zur Messung des Blutzuckers entstanden. Die Fragen nach dem Vorkommen oder Nichtvorkommen des Zuckers im Organismus, nach seinem endo- oder exogenen Ursprung beschäftigten die Forschung um die Mitte des vorigen Jahrhunderts. 1847 kam die Vermutung auf, der Harnzucker könnte aus dem Blute stammen. Bis in die neueste Zeit waren unsere Kenntnisse über die Schwankungen des Blutzuckerspiegels und ihre Beeinflußbarkeit noch sehr spärlich. Die *Natur* des *Blutzuckers* endlich, seine Verteilungsverhältnisse auf die verschiedenen Bestandteile des strömenden Blutes, seine quantitativen Beziehungen zum Harnzucker und die chemische Identität des letzteren sind noch heute Gegenstand eifriger Diskussion.

Der *Zweck dieser Untersuchung* ist, die Assimilationsgrenze für Glucose festzustellen und die sich widersprechenden Resultate der Literatur möglichst aufzuklären, fernerhin die quantitativen und zeitlichen Beziehungen zwischen Blut- und Harnzuckerspiegel zu verfolgen.

## I. Übersicht und Diskussion der Literatur.

### *A. Über Blutzucker.*

Nach den übereinstimmenden Angaben moderner Autoren beträgt der *Zuckergehalt des Gesamtblutes* beim normalen, nüchternen Individuum 0,075 bis 0,113 Proz. (1).

Folgende Faktoren rufen physiologischerweise *Änderungen des Blutzuckerspiegels* hervor:

1. der alimentäre Faktor,
2. das Geschlecht,
3. das Lebensalter,
4. die Muskelarbeit,
5. psychische Erregungen,
6. die Temperatur des umgebenden Mediums.

1. *Der alimentäre Faktor* bedingt die hauptsächlichen Schwankungen des Blutzuckerspiegels. Wie die Serienuntersuchungen von *Leire*[1]), *A. Th. Jacobsen* (9), *H. Staub* (1, 2, 3), *W. Löffler* (10) u. a. gezeigt haben, erzeugt perorale Einnahme von Glucose bei Konstanthaltung aller übrigen auf den Blutzuckerspiegel einwirkender Faktoren eine *Hyperglykämie*, welche oft von einer *Hypoglykämie* gefolgt ist. Diese Schwankungen im Blutzuckergehalt verlaufen unter Umständen so rasch, daß sie manchen Forschern entgangen sind (5, 11, 12).

Die Höhe der Hyperglykämie und ihre Dauer hängt 1. von der Menge des zugeführten Traubenzuckers, 2. von dem Glucosefixationsvermögen des Organismus, 3. von der Geschwindigkeit der Resorption im Darme ab. Je größer die aufgenommene Glucosequantität, um so höher der Anstieg der Blutzuckerkurve, um so länger die Dauer der Hyperglykämie (1). Im Gegensatz dazu behauptet allerdings *A. Th. Jacobsen*, daß 150 g Dextrose die gleiche Hyperglykämie mache wie 100 g, und auch *Folin* und *Berglund* (15) glauben, die Hyperglykämie sei kaum, wenn überhaupt, von der aufgenommenen Glucosemenge abhängig. Der Methodik und den Befunden von *H. Staub* ist aber entschieden der Vorzug zu geben. Nach *Gunnar Boe* (17) soll die Hyperglykämie auch von der *Konzentration* der zugeführten Glucoselösung abhängig sein. Dies wird vielleicht auch durch die Beobachtung von *Hawk* (19) gestützt, daß Wassereinnahme die Pankreasfunktion stimuliert und so die Verwertung der Kohlehydrate beschleunigt. *Stärkenahrung* macht Hyperglykämie, nur später wie reine Glucose (9, 20). *Eiweißmahlzeit* nach *Cammidge*, *Forsyth* und *Howard* (20) ebenso, was aber von *Folin* und *Berglund* (15) bestritten und auf psychische Einflüsse zurückgeführt wird. Auch *Jacobsen* (9) beobachtete Fehlen der Hyperglykämie nach Eiweißnahrung. *Fett* steigert den Blutzuckerspiegel auch nicht, während *Fett* mit *Stärke* den Blutzuckeranstieg, den letztere allein hervorrufen würde, verzögert (9, 20). *Zweitägige Eiweiß-Fettdiät* setzt die Assimilationsfähigkeit für Traubenzucker herab, während *einmalige Eiweiß-Fettmahlzeit* keinen wesentlichen Unterschied bedingt (3). *H. Staubs* Untersuchungen (2) über den *Einfluß verschiedener Karenzzeit* auf den alimentären Faktor, d. h. in seinem speziellen Falle auf die Blutzuckerkurve nach Aufnahme von 20 g Glucose, ergaben, daß 10 bis 15 Stunden nach einer Kohlehydratmahlzeit die Assimilationsfähigkeit für Traubenzucker am größten ist. Vorher und nachher nimmt sie ab. Die alimentäre Hyperglykämie ist nach *Staub* nur zum Teil durch *Resorption aus dem Darme* bedingt, zum Teil auch durch *Glykogenolyse* in der *Leber*. *Cammidge*, *Forsyth* und *Howard* (20) beobachteten nach Einnahme von reinem Tee eine leichte Hyperglykämie (von 0,08 auf 0,11 Proz.). Deshalb, und da die Harnstoffkonzentration im Blute nicht parallel der Zuckerkonzentration verläuft, glauben diese Autoren, daß die Blutzuckerkurve nicht durch Resorption von Dextrose aus dem Darme, sondern eher durch Ausschüttung aus der Leber zustande komme. Zu ähnlichen Schlüssen kommt auch *I. Bang* (6) durch Versuche an der Froschleber. Nach *E. Langfeldt* (21) sollen Änderungen in den Aktionsbedingungen der Leberdiastase oder mangelhafte Pankreasfunktion die Ursachen der Hyperglykämie sein.

2. *Das Geschlecht* scheint für gewöhnlich keinen Einfluß auf den Zuckergehalt des Blutes zu haben. Die Menstruation soll denselben nicht verändern,

---

[1]) Zitiert nach *Bang* (7).

dagegen nimmt in den letzten Monaten der Gravidität die Zuckerkonzentration zu (5, 10).

3. *Im Alter* ist nicht nur der Nüchternwert erhöht, sondern auch die alimentäre Reaktion wird verstärkt, wie aus den Arbeiten von *W. Löffler* (10) und *A. Punschel* (5) hervorgeht. Für das Kindesalter widersprechen sich noch die Angaben der Autoren (10, 22, 23).

4. Ermüdende *Muskelarbeit* senkt den Blutzuckerspiegel; es kann jedoch dem Absinken eine vorübergehende Hyperglykämie vorausgehen (25). Während anstrengender Arbeit wird Blutzucker verbraucht und frisch zugeführter Traubenzucker rascher aus dem Blute entfernt als bei weniger intensiver Tätigkeit oder im Ruhezustande. Im glykogenarmen, d. h. hungernden Organismus ist der Zuckerspiegel auf Arbeit besonders empfindlich. Durch physische Tätigkeit wird Glykogen mobilisiert, was aus der Tatsache hervorgeht, daß erschöpfende Arbeitsleistung, genau wie andere glykogenreduzierende Prozesse, die Assimilationsfähigkeit für Kohlehydrate herabsetzt (3).

5. *Auf psychische Erregungen* bezieht *E. Frank* (24) die Schwankungen des Blutzuckerspiegels, welche beim Kaninchen nach der Fesselung auftreten, und nach *Bang* (7) ist auch beim Menschen emotionelle Hyperglykämie, ja selbst Glykosurie beobachtet worden. Ein gleicher Fall wird von *Folin* und *Berglund* (15) zitiert.

6. *Die Temperatur des umgebenden Mediums* sowie der *Luftdruck* scheinen den Blutzuckerspiegel beeinflussen zu können. Das praktische Interesse an dieser Frage ist aber nicht sehr groß, da ja die Versuchsbedingungen in dieser Hinsicht meist relativ konstant sind (5).

Erwähnt sei noch, daß auch *dyspnoische Zustände* den Blutzuckerwert erhöhen (26).

Die *chemische Zusammensetzung des Blutzuckers* ist noch strittig. Glucose ist vorhanden, es fragt sich nur, wieviel und welches die anderen zuckerähnlichen Stoffe sind (15, 27, 29, 31, 32, 33, 34).

Über die *Verteilung des Blutzuckers* im *Körper* wird noch diskutiert. So betonen z. B. *Henriques* und *Ego* (36), wie auch *Folin* und *Berglund* (15), daß der Blutzuckerspiegel im arteriellen und venösen Blute verschieden sei.

Ebenso unklar sind die Verteilungsverhältnisse des Zuckers auf die *Bestandteile des strömenden Blutes* (5, 37) und die *Art seiner Bindung*. *Kolisch* (39, 40) z. B. supponierte das Jecorin, d. h. eine Lecithinglucose, während *Schenck* an eiweißartige Körper denkt (41).

### *B. Über Harnzucker.*

*F. Moritz* (42) und *K. Baisch* (43) waren die ersten, welche Glucose, in der Form ihres Osazons, im *normalen* Harn nachwiesen. Letzterem gelang es auch schon sehr früh, neben der Dextrose *Isomaltose* zu isolieren (44). Daß außer Glucose noch andere Zucker im Harn, Blute und Muskel vorhanden sind, wurde auch von *Pavy* und *Siau* (29) festgestellt.

*Seegen* will bewiesen haben, daß der normale Harn nicht 0,01 Proz. Traubenzucker enthalten könne, doch wird ihm von *Rosenfeld* (45) widersprochen. Auch andere Autoren (46, 47) bezweifeln das Vorkommen von Dextrose im physiologischen Harn, und *B. Oppler* (47) führt positive Befunde auf sekundäre Bildung von Glucose aus Glucosamin zurück.

Abgesehen von der Vergärungsmethode, die aber auch keine eindeutigen Resultate ergeben hat, sind alle heute angewandten Zuckerproben *nicht spezifisch* für Dextrose. Das Reduktionsvermögen des Harns, und

dieses ist es ja, welches meist bestimmt wird, rührt nicht allein von seinen Kohlehydraten her. So gibt es außer Harnsäure, Kreatinin, Glucoronsäuren noch eine ganze Reihe normalerweise vorkommender reduzierender Substanzen. Dazu gehören das Urochrom (48), die Urochloralsäure, die Benzoeglucuronsäure (*Neuberg*) (49) und der Acetaldehyd (35).

Die Unterscheidung von vergärbarem und unvergärbarem Zucker (50, 51, 52) hat die Frage nach der Natur dieser Körper nicht definitiv zu lösen vermocht, aber in anderer Hinsicht beachtenswerte Resultate geliefert[1]). *Benedict* und seine Mitarbeiter (55) glauben, daß auch der nicht vergärbare Bestandteil zu den Zuckern zu zählen sei. *Folin* und *Berglund* (15) untersuchten den Harnzucker vor und nach Hydrolyse mit 1proz. Salzsäure, und nach ihrer Meinung besteht er aus einer Vielheit von Kohlehydraten, Kohlehydratderivaten und ähnlichen Stoffen. Di- und Polysaccharide sind darunter, ein kleiner Bruchteil mag vom Zucker der Milch herrühren, in der Hauptsache aber sind es Abbauprodukte fremder, teilweise oder ganz unbrauchbarer Kohlehydratstoffe, welche in Körnern, Gemüsen und Früchten vorhanden sind. Durch Backen, Toasten, Einmachen usw. werden solche Körper in größerer Menge geschaffen. *Auch die von Benedict entdeckte Vermehrung der Harnzuckerausscheidung nach Nahrungsaufnahme soll nach der Ansicht von Folin und Berglund auf solche Stoffe zurückzuführen sein und mit dem eigentlichen Kohlehydratstoffwechsel nichts zu tun haben.* Klinisch haben sie dadurch eine Bedeutung, daß sie positive Zuckerproben vortäuschen können und vielleicht auch die Ursachen für manche Haut- und Gelenkaffektionen sind (15).

Zusammenfassend geht die Ansicht der meisten Forscher heute dahin, daß Glucose im normalen Harn vorkommt, ihre Quantität aber und die Natur aller übrigen reduzierenden Substanzen kennen wir noch nicht genau.

Wie sich aus Tafel I ergibt, differieren die Resultate der quantitativen Bestimmungen des Zuckers im physiologischen Harn noch sehr.

Der Harnzuckerspiegel hängt unter physiologischen Verhältnissen von folgenden *Faktoren* ab:

1. dem alimentären Faktor,
2. dem Geschlecht,
3. dem Lebensalter,
4. der Muskelarbeit,
5. psychischen Erregungen,
6. der Temperatur des umgebenden Mediums,
7. der Harnmenge,
8. der „Condition rénale“,
9. dem Blutzuckerspiegel.

1. *Der alimentäre Faktor* ist die Hauptursache der Schwankungen des Harnzuckerspiegels.

*L. Breul* (59) hat sehr genaue Studien über den Einfluß verschiedener Diätformen auf die tägliche Harnzuckermenge gemacht. Er fand, daß die Art der Nahrung, ob gemischte, reine Fleisch- oder rein vegetabilische Kost, keinen wesentlichen Einfluß auf die 24stündige Zuckerausscheidung hatte. Längere Zeit, 8 bzw. 28 Tage fortgesetzte, sehr erhebliche Vermehrung der Kohlehydratzufuhr bei gemischter Kost führte gar keine Steigerung der täglich ausgeschiedenen Zuckerquantität herbei. Nach

---

[1]) Vgl. Tafel III, *Benedict*, *Osterberg* und *Neuwirth*, und S. 8/9.

*Tafel I.*

Harnzuckerbefunde verschiedener Autoren.

| Autor | Harnzuckergehalt Prozent | Durchschn. Prozent | mg pro die | |
|---|---|---|---|---|
| *Moritz* (42) . . | 0,01—0,04 | — | — | vergärt, einmal 0,07 Proz. |
| *Hoppe-Seyler* (57) . | — | 0,09 | — | |
| *Pavy* (28) . . | — | 0,05 | — | |
| *Breul* (59) . . | 0,027—0,178 | 0,055 | 0,36—1,95 | vergärt |
| *Schöndorff* (60) | 0,01 —0,027 | — | — | |
| *H. Lavesson* (61) | 0,031—0,041 | — | — | vergärt |
| *Oppler* (47) . . | — | 0,04 | — | vergärt |
| *Nagasaki* (50) . | 0,002—0,033 | 0,012 | — | vergärt |
| *Myers* (88) . . | 0,25 —0,35 | — | — | |
| *Benedict, Osterberg* u. *Neuwirth* (55) . | 0,067—0,124 | — | 0,608—1,204 | Gesamtzucker |
| | — | — | 0,251—0,609 | vergärt |
| | — | — | 0,340—0,660 | unvergärt |
| *Sumner* (51) . | 0,046—0,113 | 0,067 | — | |
| *Folin* und *Berglund* (15) . . | — | — | 0,850—1,650 | vor der Hydrolyse |
| | — | — | 1,290—2,135 | nach der Hydrolse |
| *Felsher* (62) . . | — | — | 10—15 mg/kg/24 Std. | beim zuckerfreien Diabetiker |
| *Neuwirth* (52) . | 0,037—0,208 | 0,079 | 0,614—1,383 | Gesamtzucker |
| | 0,017—0,055 | — | 0,027—0,112 | vergärt |
| | 0,051—0,135 | 0,027 | 0,370—1,024 | unvergärt |
| Eigene Befunde | 0,046—0,135 | — | 0,697—1,008 | |

jeder Nahrungsaufnahme stieg die Harnzuckermenge an, in ganz besonderem Maße aber nach einer Kohlehydratmahlzeit, welcher eine 23stündige Karenz vorausging, und wobei stündlich bis zu 0,364 g Zucker ausgeschieden wurden[1]). Bei seinen Versuchen mit verschiedener Diät verglich *Breul* die 24stündige Harnzuckermenge, d. h. eine Größe, welche nicht nur vom alimentären, sondern in weitgehendem Maße auch von anderen Faktoren beeinflußt wird, also sehr variabel ist. Bei näherer Betrachtung seiner Ergebnisse ergibt sich ferner, daß bei reiner Fleischdiät die Zuckerwerte nur den minimalsten Werten bei gemischter Kost entsprechen, und daß durchschnittlich eine gesteigerte Kohlehydratzufuhr die Zuckerausscheidung vermehrt, allerdings nur in so geringem Maße, daß *Breul* dies wohl auf Ungenauigkeit der Methodik bezog. *Schöndorff* (60) untersuchte mehr als 300 Soldaten und fand in 94,6 Proz. der Fälle die *Worm-Müller*sche Reaktion positiv, während nur 15,1 Proz. von zivilen Personen dasselbe zeigten. Auch quantitative Bestimmungen ergaben übereinstimmende Resultate. Die häufige Glykosurie beim Militär erklärte sich durch den außerordentlichen Kohlehydratreichtum der Kasernenkost (durchschnittlich 604 g Kohlehydrate pro die).

In neuester Zeit haben *Benedict*, *Osterberg* und *Neuwirth* (55) das gleiche Problem in ähnlicher Weise, aber mit anderer Methodik der Harn-

[1]) Vgl. S. 22.

zuckerbestimmung, behandelt. Sie fanden nach *jeder Nahrungseinnahme*, selbst wenn diese zuckerfrei war, beim Menschen sowohl wie beim Hunde eine deutliche *Glykurese*. Dieser Ausdruck ist von *Benedict* mit der Begründung geschaffen worden, daß durch *Glykosurie* ein bestimmter Punkt bezeichnet werde, von dem an Zucker im Harn auftrete, wodurch also das Fehlen von Glucose im gewöhnlichen Urin vorausgesetzt sei. Die Bezeichnung *Glykurese* soll, im Gegensatz dazu, die *Steigerung* einer schon normalerweise vorhandenen Zuckerausscheidung andeuten. *Benedict* und seine Mitarbeiter erklären die alimentäre Harnzuckervermehrung dadurch, daß die „innere" Funktion der Bauchspeicheldrüse herabgesetzt sei, solange ihre „äußere" — d. h. die Sekretion der Verdauungsfermente — sehr in Anspruch genommen werde. Zur Stütze dieser Hypothese erwähnen sie die Befunde von *Cohnheim* und *Klee* (63), welche an Hunden mit Pankreasfistel konstatierten, daß jene Nahrungsstoffe, welche die äußere Sekretion des Pankreas am wenigsten anregen, auch die geringste Tendenz hatten, Zucker auszuscheiden, wie z. B. Hafermehl. Auf Grund ihrer Untersuchungen halten *Benedict*, *Osterberg* und *Neuwirth* (55) jedes Individuum für diabetesverdächtig, welches bei gemischter Kost pro die mehr als 1,5 g Zucker ausscheidet, bestimmt nach der Methodik dieser Autoren. Auch *Eiweißfütterung* scheint die Harnzuckermenge zu vermehren (64). Nach *Folin* und *Berglund* (15) tritt Glykurese nach jeder *kohlehydrathaltigen* Mahlzeit auf. *Sie ist unabhängig vom Blutzuckerspiegel* und hat, wie schon oben erwähnt, nichts mit dem Kohlehydratstoffwechsel zu tun. Sie fehlt aber nach *Eiweiß-Fettdiät*, sowie nach Einnahme von *reiner Glucose*, *Maltose*, *Dextrin* oder *Stärke*. Bei den Versuchen von *Folin* und *Berglund* fällt mir aber auf, daß auch nach der Einnahme dieser letzteren Stoffe die Harnzuckermenge zwar sehr wenig nur, aber doch *jedesmal* etwas vermehrt ist, daß also auch in diesen Fällen, und ebenso nach Eiweiß-Fettdiät, eine Glykurese eintritt, wenn auch nur eine sehr geringe.

*Tafel II.*

Einfluß verschiedener Diät auf die physiologische Harnzuckerausscheidung.

| | *Schöndorff* (60) | *Breul* (59) | *Benedict*, *Osterberg* und *Neuwirth* (55) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Gesamtzucker pro die | Vergärt pro die |
| Gemischte Diät | 0,01—0,027 Proz. | 0,36—1,95 g pro die<br>0,027—1,95 Proz.<br>durchschnittlich<br>0,05 bis 0,06 Proz. | 51 J. | 0,903—1,204 g<br>0,073—0,109 Proz. | 0,356—0,609 g |
| | | | 22 J. | 0,608—0,697 g<br>0,056—0,069 Proz. | 0,251—0,378 g |
| Kohlehydratreiche Diät | bis 0,1 Proz. | keine Änderung | 51 J. | 1,400—1,586 g<br>0,141—0,184 Proz. | 0,774—0,895 g |
| | | | 22 J. | 0,847—1,528 g<br>0,067—0,126 Proz. | 0,425—0,578 g |
| Kohlehydratarme Diät | | Fleisch und vegetabilische Diät,<br>keine Änderung | 51 J. | 0,723—0,791 g<br>0,042—0,051 Proz. | 0,309—0,445 g |
| | | | 22 J. | 0,455—0,552 g<br>0,040—0,059 Proz. | 0,125—0,205 g |

Klarer als bei Experimenten mit verschiedenen Diätformen müssen die Verhältnisse bei Versuchen mit einfacheren Stoffen, z. B. mit reinen Zuckerlösungen, liegen. Die meisten Untersuchungen in dieser Richtung streben danach, die *Zuckertoleranz* des Organismus zu bestimmen, ein Begriff, der noch in einem besonderen Abschnitt besprochen wird.

2. *Das Geschlecht* zeigt seinen Einfluß in der Lactosurie Gravider, einer Erscheinung, welche zwar schon lange bekannt, deren Interpretation aber immer noch sehr umstritten ist (5, 41, 65).

3. Auch das *Lebensalter* scheint die Harnzuckerausscheidung zu beeinflussen. *Neuwirth* (51) fand zwar bei Untersuchung der täglichen Harnzuckermenge eines 13jährigen Knaben gleiche Verhältnisse wie beim Erwachsenen. In den Versuchen von *Benedict*, *Osterberg* und *Neuwirth* (55) fällt aber die stärkere Zuckerausscheidung der älteren Versuchsperson (51 Jahre) im Vergleich zur jüngeren (22 Jahre) auf (vgl. Tafel II). Auch *Aldor* hat bei alten Leuten durch verhältnismäßig geringe Glucosegaben physiologische Glykosurie beobachtet[1]).

4. *Muskelarbeit* vermindert nach *Breul* (59) die ausgeschiedene Zuckermenge.

5. *Psychische Erregung* kann Glykosurie hervorrufen. *Bang* (7), wie auch *Folin* (15) zitieren solche Fälle, und von letzterem (16) stammt auch die Beobachtung transitorischer Glykosurie bei 17 Proz. von Studenten vor dem Examen. Bekannt ist auch der Fesselungsdiabetes im Tierversuch (24).

6. Niedrige *Temperatur* des *umgebenden Mediums*, also ein großes Temperaturgefälle, wirkt wie Muskelarbeit. Umgekehrt ist deshalb an einem heißen Tage die Zuckerausscheidung vermehrt (59). *L. Wacker* (66) erklärt Glykosurie bei sehr starker Abkühlung eines homoiothermen Organismus dadurch, daß die chemische Wärmeregulation durch Hyperglykämie eingeleitet werde. Wenn nun die Unterkühlung so weit gehe, daß der Gaswechsel in den Lungen ab- anstatt zunehme, dann bleibe diese Hyperglykämie längere Zeit bestehen und rufe so eine Vermehrung der Harnzuckerausscheidung hervor.

7. *Die Harnmenge* hat nach den übereinstimmenden Ansichten von *Folin* (15) wie von *Benedict* (55) weder beim Menschen noch beim Hunde eine Bedeutung für die Zuckerausscheidung. In anderem Zusammenhang werden wir zwar nochmals darauf zurückkommen.

8. Mit der „*Condition rénale*" will *R. Lépine* (27) die Tatsache ausdrücken, daß die Glykosurie nicht einfach eine Funktion der Glykämie sei, sondern auch von der Permeabilität der Niere abhänge, d. h. einer Eigenschaft, welche durch Transsudation, Sekretion und elektive Resorption bestimmter Harnbestandteile bedingt ist. Die Versuche von *Hamburger* und *Brinkman* (67) stützen die Ansicht von *Lépine*, indem es ihnen gelang, die Permeabilität der überlebenden Froschniere, unter anderem auch für Glucose, zu variieren, und zwar durch Änderung der Ionen und deren Konzentration in der Durchströmungsflüssigkeit.

9. *Der Blutzuckerspiegel* einerseits, die Niere andererseits, sind im Grunde genommen wohl die zwei einzigen Größen, von welchen die Harnzuckermenge direkt abhängt. Man könnte sich ja allerdings auch vorstellen, daß die letztere den ersteren bedinge. Dem ist aber kaum so, denn im allgemeinen scheinen die Zuckerspiegel in Blut und Harn einander parallel zu gehen, ja man ist zunächst sogar versucht zu glauben, daß die Zuckerausscheidung einzig und allein von der Blutzuckerkonzentration abhänge, während die Niere sich passiv und absolut konstant verhalte. Die tatsächlichen Verhältnisse liegen aber nicht so einfach, wie im folgenden Abschnitt auseinandergesetzt werden wird. Immerhin, der Hauptanteil

[1]) Zitiert nach *W. Löffler* (10).

kommt dem Blutzucker zu. Dies geht schon aus der Übersicht über die den Harnzucker beeinflussenden Faktoren hervor, indem von den neun sieben (1. bis 6., 9.) mehr oder weniger eindeutig durch die Blutzuckerverhältnisse bestimmt sind, und zwei (7. und 8.) nur hängen ausschließlich von der Nierenfunktion ab. 1. steht zwar sicher auch unter dem Einfluß der renalen Komponente, 2. und 6. sehr wahrscheinlich.

Auf jeden Fall hat heute der Satz fast allgemeine Anerkennung, daß unter *physiologischen* Verhältnissen eine Vermehrung der Harnzuckermenge einer Hyperglykämie entspreche.

### C. *Über die „Assimilationsgrenze"*.

Unter der *Assimilationsgrenze* für Traubenzucker versteht man nach *F. Hofmeister* (68) diejenige Dextrosemenge, welche man einem Individuum gerade noch zuführen kann, ohne daß ein nachweisbarer Zuckerverlust durch den Harn auftritt. Diese soll für die gleiche Person und die gleiche Zuckerart annähernd konstant sein.

Der *Schwellenwert der Niere* für Glucose entspricht derjenigen Konzentration des Blutzuckers, welche Zucker im Harn erscheinen läßt.

Die *Assimilations-* oder *Toleranzgrenze* stellt diejenige maximale Menge eines Stoffes dar, welche der Organismus gerade noch aufzunehmen vermag, ohne ihn wieder auszuscheiden. Sie wird also durch die der Gesamtheit der Körperzellen pro Zeiteinheit zur Verwertung zugeführte Menge der betreffenden Substanz ausgedrückt; sie muß deshalb, und darauf haben *Woodyatt* (70) und seine Mitarbeiter nachdrücklich hingewiesen, in Grammen Substanz pro Kilogramm Körpergewicht pro Stunde gemessen werden.

Aus diesen Überlegungen ergibt sich schon, daß die Toleranzgrenze, welche durch perorale Eingabe von Glucose geprüft wird, auch von den Resorptionsverhältnissen im Darme in weitgehendem Maße abhängig ist. Trotzdem dürfen wir aber annehmen, daß *bei Einhaltung entsprechender Versuchsbedingungen* diese Faktoren genügend konstant bleiben, um vergleichende Untersuchungen zu gestatten. Die Befunde *Staubs* (1, 2) bestätigen diese Ansicht vollkommen, so daß auch in meinen Versuchen die Toleranzgrenze in Grammen Glucose ausgedrückt wird. Dem widersprechen zwar *Woodyatt*, *Sansum* und *Wilder* (70), welche, wie eben erwähnt, die Assimilationsgrenze in Grammen pro Körpergewicht pro Zeit ausdrücken, und welche diesen Wert durch intravenöse Injektion entsprechend 0,8 bis 0,9 g/kg/Std. bestimmten, indem sie aus der stärksten Glykosurie, die sich erzeugen ließ, berechneten, daß nie mehr als 1,8 g/kg/Std. aus dem Darme resorbiert werden könne. Aber, angenommen, diese Schlußfolgerung sei richtig, auf meine Versuche hat sie keine Anwendung, da ich nur kleinere Glucosemengen benutzte.

Schwellenwert und Assimilationsgrenze (ich sehe hier von Gaswechselversuchen ab) werden an der gleichen Größe (Harnzucker) gemessen, aber in verschiedenem Maßstabe, weil dann, wenn die Assimilationsgrenze überschritten ist, auch sofort der Schwellenwert erreicht wird, und umgekehrt, auch der Schwellenwert unerreicht bleibt, solange die Assimilationsgrenze nicht übertroffen worden ist, so sind die Versuchsresultate in bezug auf beide Größen identisch trotz ihrer prinzipiellen Verschiedenheit. Einzig *Benedict* (55) und seine Mitarbeiter machen eine Unterscheidung, indem sie als Stigma einer überschrittenen Toleranzgrenze den Wechsel im Verhältnis von unvergärtem zu vergärtem Harnzucker bezeichnen, während

der Schwellenwert erst durch die Vermehrung der Gesamtzuckermenge markiert wird[1]).

Die Resultate in der Erforschung der Assimilationsgrenze sind von außerordentlicher Diskrepanz, entsprechend den ganz verschiedenen Methoden, welche angewandt wurden. Glauben die einen Forscher, die Toleranzgrenze sei erst überschritten, wenn die *Fehling*sche Lösung reduziert werde, was einer Zuckerkonzentration von etwa 0,1 Proz. entspricht (55) und wobei es auf die Harnmenge genau im gleichen Maße ankommt wie auf die Zuckerquantität, oder untersuchen andere mit feinen quantitativen Methoden, so ist es nicht verwunderlich, daß widersprechende Befunde erhoben werden. So behauptet *E. Rainmann* (71), man dürfe erst bei Konzentrationen von über 0,2 Proz. von Glykosurie sprechen, und da er zudem seine Versuche nach zweistündiger Karenzzeit ausführt, kommt er zu dem Schluß, daß sehr große Traubenzuckermengen zugeführt werden müssen, um die Assimilationsgrenze zu überschreiten. *F. M. Allen* (72) bestreitet jede Grenze der Zuckeraufnahmefähigkeit eines normalen Individuums, und auch *Folin* und *Berglund* (15) glauben, daß normalerweise Glucose nicht ausgeschieden werde, indem durch Absorption in die Gewebe und Glykogenbildung die Akkumulation von Zucker im Blute verunmöglicht werde. Erniedrigung des Nierenschwellenwertes komme ziemlich häufig vor, unter 100 Studenten ein bis zwei, und sei gleichbedeutend mit „renaler Glykosurie". *F. W. Pavy* (30) dagegen hält die Nieren für komplett durchlässig für die im Blute vorkommenden Spuren von Glucose. *Benedict, Osterberg* und *Neuwirth* (55) finden, daß der Mensch nur in nüchternem Zustande vollkommen zuckertolerant sei, weil er nur dann keinen *vergärbaren* Zucker ausscheide.

Die Beziehungen zwischen den Zuckerspiegeln im Blute und Harn, oder, anders gesagt, die Verhältnisse des Nierenschwellenwertes, sind sehr komplexe. Die Niere läßt oft, obwohl sie nicht krank ist, Zucker in den Harn übertreten, während der Blutzuckerspiegel normal, ja subnormal ist, und andererseits kann Glykosurie, selbst bei bedeutender Hyperglykämie, fehlen (27). Diese scheinbar paradoxen Feststellungen beruhen darauf, daß die Hyperglykämie der Glykosurie zeitlich vorausgeht.

Das Nachhinken der Glykosurie hat schon viel Kopfzerbrechen gemacht. *von Brasol, E. Frank, A. Th. Jacobsen, Nonnenbruch* und *Szyszka* und viele andere machen darauf aufmerksam. *von Brasol* (73) erklärt es sich durch die Einwirkung des zuckerreichen Blutes auf die Niere, welche auf einem gewissen Niveau gleichsam einschnappt, mit der Zuckerausscheidung beginnt und diese dann über das Maß hinaus fortsetzt. *Bang* (7) spricht von Konzentrationsgefälle des Zuckers im Blute, das den Reiz für die Nieren darstelle. *Nonnenbruch* und *Szyszka* (74) supponieren einen Reiz im Gewebe, wie es *Veil* (75) für die Kochsalzausscheidung nach reichlicher NaCl-Zufuhr getan hat, wo auch das Kochsalz aus dem Blute ins Gewebe verschwindet und von dort ausgeschieden wird, ohne daß eine zweite Hyperchlorämie auftritt. Die Annahme, daß das rasche Verschwinden der Hyperglykämie auf einer Verdünnung des Blutes beruhe, wird von *W. Lipschitz* (76) angefochten, dessen Versuche darauf hinweisen, daß der Abfall des Blutzuckerspiegels durch überschießende Sekretion, nur zum kleinsten Teile durch vermehrte Speicherung der Leber oder gesteigerte Verbrennung bedingt ist. Es ist schwer, die Glykosurie in einem Zeit-

[1]) Vgl. Tafel III.

punkte zu erklären, da Traubenzucker, Chloride und Wasser im Blute ihre normalen Werte wieder erreicht haben. *W. M. Bayliss* (37) hingegen erwähnt die Möglichkeit, daß Glucose nicht nur blutverdünnend wirke, sondern auch eine lokale Dilatation der Nierenarterien hervorrufe.

Nach *Naunyn* (64) ist eine Person, welcher man 100 g Traubenzucker in *nicht nüchternem* Zustande verabreicht hat, d. h. eine Stunde nach einem Frühstück, welches aus einer Tasse Milch und einer Semmel besteht, und die daraufhin über 1 Proz. Harnzucker oder über 2 g Dextrose ausscheidet, unbedingt als diabetesverdächtig zu betrachten. Dies wird zwar von *Jacobsen* (9) bestritten, aber in *Naunyns* Angabe ist doch angedeutet, daß die Assimilationsgrenze vom *Ernährungszustande* des betreffenden Individuums abhängig ist. Im nüchternen Zustande liegt sie tiefer. *Worm-Müller* (77) hat schon nach Einnahme von 50 g Glucose beim Nüchternen Melliturie beobachtet. Weitere Daten vgl. Tafel III. *F. Hofmeister* (69) fand bei Untersuchungen am hungernden Hunde eine so starke Herabsetzung der Zuckertoleranz, daß er den Zustand als *Hungerdiabetes* bezeichnete. Infolge der mangelhaften Ausnutzung des resorbierten Zuckers zeigten Hungertiere nach Nahrungsaufnahme Glykosurie. Bei ganz entkräfteten Hunden blieb aber auch diese aus, weil zuletzt auch jene Funktion aufhört, welche zum Zustandekommen des Hungerdiabetes unentbehrlich ist. Vielleicht entspricht dieser Zustand jenem Punkte in *H. Staubs* Karenzversuchen (2), wo trotz Abnahme der Kohlehydrattoleranz die Hyperglykämie geringer wird, was vom Autor durch extreme Glykogenarmut erklärt wird. Der von *Hoppe-Seyler* (58) beschriebene *Vagantendiabetes* gehört wohl auch hierher.

Sehr schön illustrieren die folgenden Versuche von *Benedict, Osterberg* und *Neuwirth* (55) den Einfluß der Karenzzeit auf die Glykurese und damit wohl auch auf die Assimilationsgrenze. Wenn die Glucoseaufnahme dem Frühstück um 2 Stunden vorausging, so war die durch letzteres bedingte Glykurese viel geringer, als wenn nüchtern gefrühstückt wurde. Zur Erklärung geben sie an, daß durch die vorausgehende Zuckereinnahme die Pankreasfunktion angeregt worden sei. Glucose, mit den Mahlzeiten eingenommen, verstärkte die durch letztere allein hervorgerufene Glykurese, weil durch die „äußere" Funktion der Bauchspeicheldrüse ihre „innere" eingeschränkt werde. Es scheint also, daß während einer nüchtern eingenommenen Mahlzeit die Zuckertoleranz herabgesetzt ist, daß sie sich im Laufe der folgenden Stunden hebt, um im nüchternen Zustande wieder einen niedrigen Wert einzunehmen.

## II. Experimenteller Teil.

### *A. Methodik.*

#### 1. Harnzuckerbestimmung.

Haben erst die Serienuntersuchungen Klarheit in die scheinbar so verwickelten Verhältnisse des *Blut*zuckers gebracht, so hoffte ich, das Problem des Zuckers im *Harn* werde sich auf die gleiche Weise seiner Lösung näher bringen lassen, dies um so mehr, als hier nicht nur die Konzentration, sondern auch die *absolute Menge* des Zuckers bestimmbar ist. Daß mit den Konzentrationsgrößen allein nicht viel erreicht wird, leuchtet von vornherein ein, hängen doch diese von der Harnmenge ab, deren außerordentliche Variabilität ja allgemein bekannt ist.

*Tafel III.*

Einfluß von peroraler Glucoseeinnahme auf die Harnzuckermenge.

| Autor | Glucosedosis g | Harnzucker g | |
|---|---|---|---|
| *Voit* (78) | subkutan 50<br>60<br>100 | 0<br>Spuren<br>2,64 | |
| *Frank* (24) | nüchtern 100<br>per os<br>200 | 0 nach $1^1/_2$, 0,07 nach 3 Std.<br>0,515 nach $1^1/_2$, 1,24 nach 3 Std. | |
| *Worm-Müller* (77) | nüchtern per os 50 | 0,47 | |
| *Noorden* (41) | nüchtern per os 150<br>250 | 0,15<br>0,52 | Die Harnzuckermenge steigt nicht proportional der über den Schwellenwert zugeführt. Menge Glucose |
| *Thannhauser* u. *Pfitzer* (79) | intravenös 20<br>7proz. Lösg. 35 | 0,1<br>0,5 | |
| *Jacobsen* (9) | 100 | 0,2—0,3 Proz. in 9 v. 15 Fällen | Meist 3 bis 4 Std. nach Frühstück. Nach *Hamman* (12) verminderte K.-H.-Toleranz, nach *Folin* (15) Emotion |
| *Nagasaki* (50) | per os 25 | 0,003—0,015 g in 4 Std. | |
| *Taylor* und *Hulton* (11) | 3 Std. 200 nach Frühstück<br>300<br>400<br>500 | + in 6 v. 23 Fällen [1])<br>„ 3 „ 9 „<br>„ 2 „ 4 „<br>„ 1 „ 5 „ | |
| *Hamman* und *Hirschman* (12) | nüchtern per os 100<br>200 | + in 2 von 6 Fällen [1])<br>in 1 Fall Spuren | Blutzucker nur je einmal bestimmt, trotzdem Behauptung, er sei nicht über 0,15 Proz. gestiegen, also hätten diese drei Fälle eine Schwellenwertserniedrigung. Glykosurie sei nur eine ernste Affektion, wenn sie b. hohem Schwellenwert auftrete |
| *Goto* und *Kuno* (80) | nüchtern 50<br>per os<br>100 | + in 5 v. 14 Fällen [1])<br>„ 33 „ 53 „<br>0,25—0,795 g in 4 Std. | Wenn Glykosurie unter 0,17 Proz. Blutzucker auftrete, so sei es ein renaler Diabetes |
| *Folin* und *Berglund* (15) | nüchtern 200<br>per os | keine Glykosurie | |
| *Benedict, Osterberg* und *Neuwirth* (55) | nüchtern per os 51 J. 20 | — Glykurese | Verhältnis von vergärbarem zu unvergärbarem Zucker zugunsten von ersterem verschoben |
| | 51 J. 40 | 0,1 g in 2 Std. | |
| | 51 J. 60 | 0,4 g in 2 Std. | Ebenso |
| | 22 J. 20 | 0 | Nicht verschoben |
| | 22 J. 50 | 0 | „ „ |
| | 22 J. 60 | + Glykurese | Verschoben |

[1]) Nach *Benedicts* Methode (53).

*Tafel IV.*

Nierenschwellenwert und Assimilationsgrenze.

| Autor | Blutzucker | Glucosedosis |
|---|---|---|
| *C. Bernard* (81) | Unter 0,224—0,260 Proz.[1] keine Glykosurie, manchmal bei 0,30 Proz. noch keine | |
| *Hagedorn* (82) | 0,063—0,120 Proz. nüchtern | — |
| *Hofmeister* (78) | — | 1,9—2,5 g/kg per os |
| *Jacobsen* (9) | Über 0,160—0,170 Proz. | 100 g per os |
| *Thannhauser* u. *Pfitzer* (79) | — | 20 g intravenös |
| *Woodyatt, Sansum* und *Wilder* (70) | — | 0,8—0,9 g/kg/Std. |
| *Hamburger* u. *Brinkman* (67) | 0,2—0,3 Proz.[2] | — |
| *Benedict, Osterberg* und | — | 20—40 g 51 J. |
| *Neuwirth* (55) | — | 50—60 g 22 J. |
| *Ambard* (83) | 0,107—0,520 Proz. | — |
| *Goto* und *Kuno* (80) | 0,15—0,06 Proz., senkt sich im Verlauf der Glykurese | |
| Mehrheit der Autoren nach *Folin* und *Berglund* (15) | 0,160—0,180 Proz. im Gesamtblut | |

Zwei Bedingungen müssen zu diesem Zwecke erfüllt sein: 1. muß Harn in genügend kurzen Intervallen gelöst werden können, 2. muß eine Methodik zur Verfügung stehen, empfindlich und einfach genug, um die kleinen in Frage kommenden Zuckermengen exakt zu fassen.

Versuche in dieser Richtung ergaben nun, daß nach Einnahme von 500 ccm Wasser oder nach einer gemischten Mahlzeit alle 15, ja alle 10 Minuten uriniert werden kann, vorausgesetzt normale Versuchsperson und das Fehlen von Stuhldrang, von starker Transpiration, von psychischer Erregung. Zur Bestimmung des Harnzuckergehaltes erschienen mir zwei Methoden vor anderen besonders geeignet: 1. diejenige von *Folin* und *Berglund* (13, 14) und 2. diejenige von *Benedict* und *Osterberg* (56).

Die erstere erfordert zur Entfärbung des Harns und zur Entfernung von Kreatin, Kreatinin usw. die Anwendung eines bestimmten, bolushaltigen Reagens, des sogenannten *Lloyds* alkaloidal reagent[3]). Infolge von Streik wurde aber die Beschaffung desselben so verzögert, daß nur zwei Untersuchungen ausgeführt werden konnten mit dem Resultat, daß sich die von *Folin* angegebenen Standardlösungen für so starke Verdünnungen, wie ich sie bei den betreffenden Versuchen erhielt, nicht anwenden lassen. Es hätte eingehender Experimente bedurft, um die Methodik den betreffenden Verhältnissen anzupassen.

Aus diesem Grunde benutzte ich die neueste der Harnzuckermethoden von *S. R. Benedict* und *E. Osterberg* (56). Diese ist nicht mit dem von den gleichen Forschern im Jahre 1918 angegebenen, komplizierteren Pikrinsäureverfahren zu verwechseln. Die hier angewandte Methodik ist schon vor ihrer Publikation während zweier Jahre von den Autoren mit gutem

[1]) Im arteriellen Blute.

[2]) Bei der Froschniere.

[3]) Zu beziehen von E. Lilly & Co., Indianapolis (U. S. A.).

Erfolge benutzt worden. Zu Serienbestimmungen ist sie ihrer Einfachheit halber sehr geeignet.

Die Reaktion zwischen Zucker und Pikrinsäure[1]) verläuft, bei niederer Konzentration der letzteren und in Gegenwart von Natronlauge, quantitativ. Durch Zugabe einer bestimmten Menge von Aceton kann man den Farbeffekt, welcher von Kreatin und Kreatinin herrührt, zerstören, ohne die Zuckerreaktion dadurch wesentlich zu beeinflussen. Es ist also möglich, Zucker in Gegenwart von selbst großen Mengen Kreatin und Kreatinin quantitativ zu bestimmen. Die Stoffe, welche sich an der bei hoher Temperatur ablaufenden chemischen Umsetzung beteiligen, sind: Zucker, Kreatin, Kreatinin, Pikrinsäure, Alkali und Aceton. Die durch Aceton, Kreatin und Kreatinin hervorgerufene Verfärbung verschwindet innerhalb 5 Minuten; der Farbumschlag, welcher durch Zucker bedingt ist, tritt dagegen langsamer auf und hält mindestens ³/₄ Stunden an. Drei- bis vierfache Mengen von Kreatin oder Kreatinin ändern den Zuckerwert nicht, nur noch größere Quantitäten vermögen denselben etwas herabzudrücken. Unbekannte Substanzen erhöhen die „Zuckermenge“. Dieselben werden durch Knochenkohle entfernt. *Benedict* und *Osterberg* reinigen gewöhnliche Knochenkohle dadurch, daß sie 250 g derselben mit 1500 ccm verdünnter Salzsäure (1 Teil konzentrierter HCl zu 4 Teilen $H_2O$) ungefähr 30 Minuten lang kochen, dann abnutschen und so lange mit Wasser, heißes ist vorzuziehen, waschen, bis das Spülwasser gegen Lackmus neutral reagiert. Dann wird getrocknet und pulverisiert (56). Gewöhnliche Tierkohle und auch *Merck*sche ist dazu nicht zu verwenden, hingegen benutzte ich die schon gereinigte Knochenkohle von *Kahlbaum*. Es ist aber angezeigt, den Inhalt jeder neuen Flasche mehrmals darauf zu untersuchen, ob er nicht Zucker adsorbiere.

Ausführung der Zuckerbestimmung im Harn:

Urin eventuell verdünnen, damit spezifisches Gewicht nicht über 1025 bis 1030.

15 ccm Harn, 1 g Knochenkohle, eventuell kleinere, entsprechende Mengen.

5 bis 10 Minuten kräftig schütteln.

Durch trockenes Filter filtrieren. Falls Filtrat etwas dunkel, dies wiederholen.

Vom Filtrat so viele Kubikzentimeter als etwa 1 mg Zucker entsprechen, das sind gewöhnlich 1 bis 2 ccm, nie aber mehr als 3 ccm, in ein Reagenzglas gießen, welches bei 12,5 und 25,0 ccm markiert ist. Werden weniger als 3 ccm vom Filtrat verwendet, so gießt man destilliertes Wasser ad 3,0 ccm nach. Hierzu fügt man 1 ccm 0,6proz. Pikrinsäure (am besten aus fester Pikrinsäure hergestellt).

Etwa 0,5 ccm oder 10 Tropfen 5proz. Natronlauge.

5 Tropfen 50proz. Aceton, welches alle 1 bis 2 Tage aus 100proz. frisch hergestellt wird.

Dann leicht schütteln und *rasch* für 12 bis 15 Minuten ins kochende Wasserbad.

Abkühlen.

Mit aqua dest. ad 25,0 ccm verdünnen.

Innerhalb ³/₄ Stunden kolorimetrieren.

---

[1]) Genau genommen, handelt es sich um die Reaktion von Zucker mit einem zwischen Aceton und Pikrinsäure sich bildenden Körper (56).

Es kann vorkommen, daß sehr fein pulverisierte Knochenkohle das Filter passiert, meist allerdings in so geringer Menge, daß sie nicht stört. Andernfalls ist es ratsam, die Farblösung zu zentrifugieren oder beim Einfüllen in die Kolorimeterröhre nochmals zu filtrieren.

Gleichzeitig und auf genau dieselbe Weise wie das Filtrat werden 3 ccm von der Standardlösung behandelt.

Es empfiehlt sich, eine solche Standardlösung herzustellen, die 1 mg Glucose in 3 ccm aqua dest. enthält und dieselbe, um ihre Haltbarkeit zu erhöhen, unter Toluol aufzubewahren. Auf diese Weise lassen sich Mengen von 0,75 bis 1,75 mg mit befriedigender Genauigkeit bestimmen. Bei zuckerärmeren Harnen wird eine Testlösung verwendet, die in 3 ccm Wasser nur ½ mg Glucose enthält, und, damit die Farbreaktion nicht zu blaß zum Kolorimetrieren werde, verdünnt man in diesem Falle Standardlösung und Harnportion statt auf 25,0 ccm nur ad 12,5 ccm.

Wesentlich ist, daß die Harn-, die Testlösung- und die Pikrinsäurequantitäten ganz exakt abgemessen werden.

Zu meinen Untersuchungen verwandte ich ein Kolorimeter nach *Dubosq.*

Die Kolorimetrie macht anfänglich etwas Schwierigkeiten, bis das Auge sich daran gewöhnt hat, feine Differenzen der gelben Farblösungen wahrzunehmen[1]). Der Zuckergehalt ergibt sich aus der Kolorimetrierung nach folgendem Verhältnis:

$$A : B = b : a,$$

wenn $A$ der Skalenwert der Standardlösung, $B$ der Skalenwert des Harns, $a$ die Konzentration der Standardlösung, $b$ die Konzentration des Harns sind.

## 2. Blutzuckerbestimmung.

Ich benutzte die *Mikromethode* nach *Bang* (8), und zwar die *alte* Form, wie sie schon 1916 angegeben worden ist.

Alle Blutzuckerwerte wurden durch Doppelbestimmungen festgelegt.

## 3. Versuchsbedingungen.

Besondere Sorgfalt verwandte ich auf die Einhaltung konstanter Versuchsbedingungen, beruht doch gewiß ein großer Teil der Widersprüche in der Literatur auf Verschiedenheiten in den Versuchsanordnungen.

### Versuchspersonen:

*G. C.*, Medizinstudent, 22 Jahre, 72 kg, 185 cm.

*H. Sch.*, Medizinstudent, 21 Jahre, 63 kg, 167 cm.

*A. G.*, Bahnangestellter, 37 Jahre, 57 kg, etwa 170 cm.

Die *Familien-*, wie die *persönlichen Anamnesen* aller drei Versuchspersonen zeigten gar keine Belastung in bezug auf Stoffwechselstörungen.

Der *Gesundheitszustand* von *G. C.* und von *H. Sch.* war ein sehr guter. *A. G.* lag während mehrerer Tage auf der Klinik, wo nach wiederholten, genauesten Untersuchungen nur eine Neurose festgestellt werden konnte. Zeichen von Schilddrüsenstörungen, wie sie ja in unserer Gegend so häufig sind, fehlten. Hierauf wurde ganz besonders geachtet, zeigen doch Unter-

[1]) Hier sei auch noch auf die Apparatur von *W. R. Hess* zur photographischen Konzentrationsbestimmung einer Farbstofflösung verwiesen (84). Sie ermöglicht es, den Extinktionswert von Farblösungen zu bestimmen und daraus deren Konzentration zu berechnen.

suchungen verschiedener Autoren einen unbestreitbaren Einfluß der Thyreoidealfunktion auf die Zuckerausscheidung (12, 64, 70, 85).

Stärkere *Muskelarbeit* wurde schon in der Karenzzeit unterlassen, und während der Experimente selbst verhielt sich die Versuchsperson ruhig, in sitzender Stellung, nur die notwendigsten Bewegungen, wie sie zur Kollektion des Blutes und Harns notwendig waren, ausführend. Anfängliches Nichtbeachten dieser Vorschrift führte teilweise zu falschen Resultaten.

*Emotionelle Beeinflussung* war wohl ausgeschlossen, da zwei der Versuchspersonen Medizinstudenten waren, die Zweck und Art der Experimente kannten, und auch *A. G.* schien das häufige Urinieren gar nicht zu beunruhigen oder zu erregen. Blut wurde letzterem, um Exzitation zu vermeiden, nicht entnommen.

Nicht nur die *Karenzzeit*, sondern auch die *Art* der vorausgehenden Nahrung spielt eine Rolle (3, 4, 41, 86). Die *Probemahlzeit*, welche 5 oder 14 Stunden vor jedem Versuche eingenommen wurde, bestand für *H. Sch.* und *A. G.* aus 100 g Nudeln (Trockengewicht), 1400 g gezuckertem Apfelmus und 300 g Milch; für *G. C.* aus 100 g Nudeln[1]) (Trockengewicht) oder 50 g Reis (Trockengewicht), 350 g gezuckertem Apfelmus und 300 g Milch. Besonders zu betonen ist, daß nach der Probemahlzeit keine Flüssigkeitsaufnahme mehr stattfand. Auch in der Zwischenzeit zwischen den Versuchen wurde weder Tabak noch Alkohol genossen, Kaffee und Tee nur in sehr geringen Quantitäten. Außerordentliche Muskelanstrengungen wurden ebenfalls unterlassen. Zu den Versuchen mit Glucose benutzte ich: „Traubenzucker puriss. wasserfrei für Injektionen" von *E. Merck*, Darmstadt. Derselbe wurde *immer* in 500 ccm aqua dest. gelöst eingenommen. Als *Zucker* bezeichne ich in diesen Versuchen die Gesamtheit derjenigen Körper, die mit der *Benedict*schen Methode im Harn nachgewiesen werden, ohne mich damit über ihre chemische Zusammensetzung und Identität auszusprechen. Alle Versuche, bei welchen nicht das Gegenteil besonders vermerkt ist, sind in körperlicher Ruhe ausgeführt worden. Die konzentrierteren Harnportionen wurden auch qualitativ auf Zucker untersucht (*Nylander*). Da diese Reaktion aber *immer negativ* ausfiel, wie auch die verschiedentlich ausgeführten Eiweißproben (Kochprobe), so verzichte ich darauf, sie in den Tafeln aufzuführen. Ebenso blieb die *Ruoss*sche *Probe* (87), welche ja für Glucose weitgehend spezifisch ist und die sich im hiesigen Laboratorium sehr bewährt hat, stets negativ.

## B. *Versuche.*

### 1. Einleitende Untersuchungen.

Zur Prüfung der *Benedict*schen Harnzuckermethode, sowie zur Kontrolle des Stoffwechsels von *G. C.* wurde an drei Tagen die ausgeschiedene Tagesmenge berechnet (Tafel V). Sie schwankte zwischen 0,697 und 1,009 g oder 0,041 bis 0,135 Proz. Diese Werte entsprechen durchaus den Angaben von Autoren, die sich der gleichen[2]) oder einer ähnlichen Methodik bedienten (Tafel I).

Die ersten Versuche mit Reihenbestimmungen sind in *Tafel VI und VII* dargestellt. *Abszisse* ist die Zeit, die *Ordinate* für die ausgezogene Kurve

---

[1]) Die Kombination Nudeln mit Apfelmus wurde nach einigen Tagen nicht mehr ertragen, so daß die Nudeln durch Reis ersetzt werden mußten.

[2]) Z. B. *Neuwirth* an 26 Studenten (52).

*Tafel V.*

Bestimmung der täglichen Harnzuckermenge.

| Datum | Zeit | Harnmenge ccm | Harnzucker Proz. | Harnzucker mg | Tagesmenge mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 14. VIII. 1922 | 6h 45'—11h 30' | 114 | 0,117 | 168 | 733 |
| | 11 30—14 25 | 118 | 0,083 | 98 | |
| | 14 25—16 00 | 54 | 0,120 | 65 | |
| | 16 00—18 20 | 72 | 0,106 | 76 | |
| | 18 20—21 30 | 108 | 0,102 | 110 | |
| | 21 30— 7 00 | 210 | 0,103 | 216 | |
| 15. VIII. 1922 | 7 00— 7 50 | 45 | 0,099 | 44 | 1008 |
| | 7 50—11 50 | 177 | 0,135 | 239 | |
| | 11 50—13 30 | 90 | 0,070 | 63 | |
| | 13 30—14 55 | 100 | 0,063 | 63 | |
| | 14 55—15 35 | 44 | 0,066 | 29 | |
| | 15 35—16 30 | 58 | 0,070 | 40 | |
| | 16 30—20 30 | 220 | 0,131 | 288 | |
| | 20 30—21 40 | 20 | 0,128 | 26 | |
| 17. VIII. 1922 | 19 50— 6 55 | 250 | 0,114 | 284 | 697 |
| | 6 55—12 50 | 410 | 0,041 | 167 | |
| | 12 50—16 28 | 280 | 0,046 | 130 | |
| | 16 28—19 45 | 200 | 0,058 | 116 | |

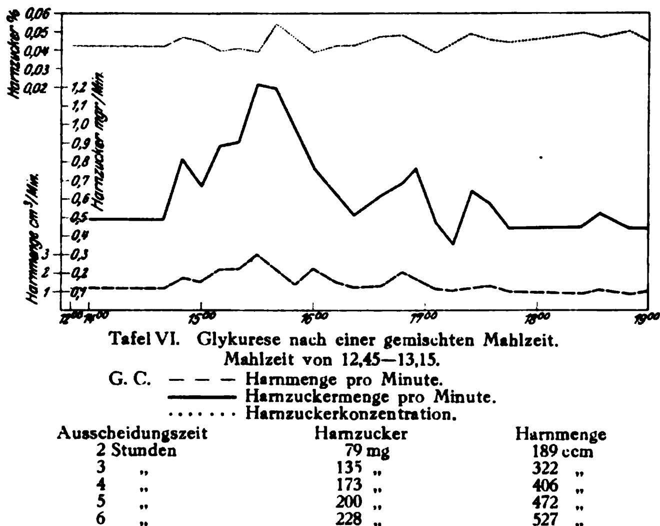
ist die seit der vorhergehenden Blasenentleerung durchschnittlich pro Minute ausgeschiedene Zuckermenge in Milligrammen, für die punktierte der Harnzuckergehalt in Prozenten, für die gestrichelte die Harnmenge pro Minute in Kubikzentimetern. Die ausgeschiedene Zucker*quantität* wird durch ein Rechteck wiedergegeben, dessen Grundlinie die Zeit, dessen Höhe die durchschnittlich pro Minute eliminierte Harnzuckermenge ist. Der geringeren Übersichtlichkeit wegen wurde auf die Darstellung in Klotzkurvenform verzichtet. Bei den in den folgenden Tafeln eingezeichneten strichpunktierten Kurven entspricht die Ordinate der Blutzuckerkonzentration.

*Tafel VI.* Ungefähr 1½ Stunden nach der Einnahme einer gemischten Mahlzeit[1]) tritt eine Glykurese auf, welche in 1 Stunde ihr Maximum erreicht und etwa 3½ Stunden andauert. Da gleichzeitig mit der Glykurese auch eine Verstärkung der Diurese einsetzt, zeigt die Harnzuckerkonzentrationskurve nur geringe Schwankungen.

*Tafel VII* zeigt, daß in den 2 Stunden, welche unmittelbar auf die Mahlzeit[1]) folgen und die in Tafel VI nicht untersucht wurden, keine starke Schwankung der Harnzuckerkurve vorkommt. Eine Steigerung der Zuckerausscheidung setzt also erst 1½ Stunden nach der Mahlzeit ein. Während der Versuche Nr. VI und VII wurde Laboratoriumsarbeit verrichtet. Das nicht ganz ruhige Verhalten hat wahrscheinlich die starke Zerklüftung der Kurven verursacht.

Aus den Vorversuchen ergibt sich also 1. daß die tägliche Harnzuckermenge von *G. C.* 0,697 bis 1,009 g beträgt, 2. daß, wenn man die Zucker-

[1]) Die Mahlzeit bestand aus: 500 ccm Gemüsesuppe, 380 g Wasser, 60 g Brot, 130 g gebackenes Rindshirn, 150 g Nudeln, 140 g Bohnen, 60 g Salat, 250 g frisches Obst, 100 g schwarzen Kaffee, 50 g Zucker, 50 g Milch.

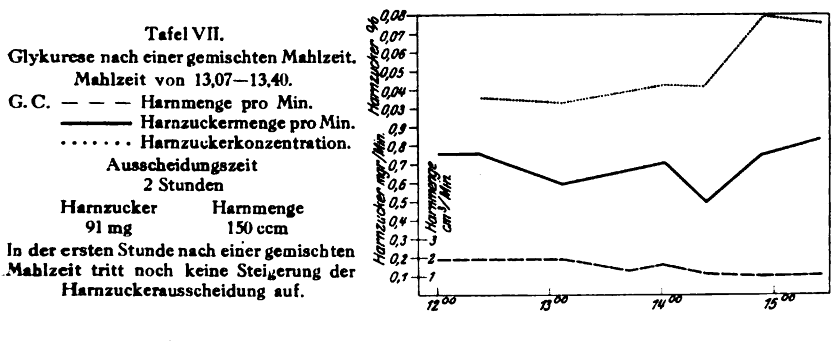



Tafel VI. Glykurese nach einer gemischten Mahlzeit.
Mahlzeit von 12,45—13,15.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.
······· Harnzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 79 mg | 189 ccm |
| 3 „ | 135 „ | 322 „ |
| 4 „ | 173 „ | 406 „ |
| 5 „ | 200 „ | 472 „ |
| 6 „ | 228 „ | 527 „ |

Ungefähr $1^1/_2$ Stunden nach einer gemischten Mahlzeit tritt deutliche Glykurese auf, die in 1 Stunde ihr Maximum erreicht hat und innerhalb $3^1/_2$ Stunden abgelaufen ist. Die Harnzuckerkonzentration zeigt unbedeutende Schwankungen.



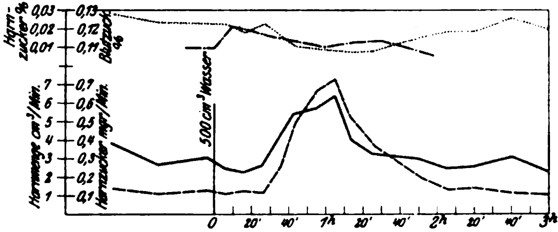

Tafel VII.
Glykurese nach einer gemischten Mahlzeit.
Mahlzeit von 13,07—13,40.

G. C. — — — Harnmenge pro Min.
——— Harnzuckermenge pro Min.
······· Harnzuckerkonzentration.

Ausscheidungszeit
2 Stunden

| Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|
| 91 mg | 150 ccm |

In der ersten Stunde nach einer gemischten Mahlzeit tritt noch keine Steigerung der Harnzuckerausscheidung auf.

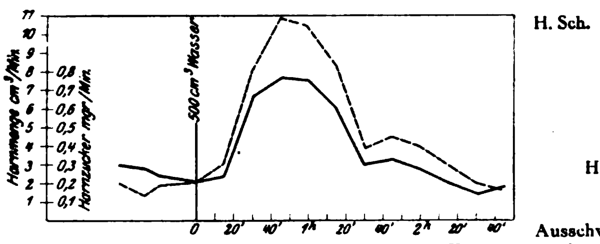



Tafel VIII. 500 ccm Leitungswasser nach 14stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute. ······ Blutzuckerkonzentration.
——— Harnzuckermenge pro Minute. ······· Harnzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 44 mg | 405 ccm |
| 3 „ | 58 „ | 476 „ |

Nach Einnahme von 500 ccm Leitungswasser tritt eine deutliche *„Ausschwemmungsglykurese“* auf. Die Diurese verläuft ungefähr parallel der Zuckerausscheidung. Die Blutzuckerkurve schwankt um den Nüchternwert.

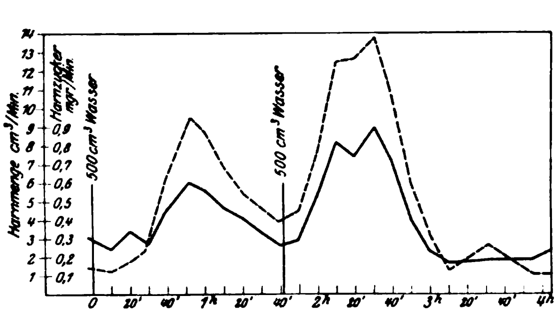



Tafel IX. 500 ccm Leitungswasser nach 14stündiger Karenz.

H. Sch. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.

| Ausscheidungszeit | |
|---|---|
| 2 Stunden | |
| 3 „ | |
| Harnzucker | Harnmenge |
| 61 mg | 797 ccm |
| 72 „ | 920 „ |

Ausschwemmungsglykurese nach Einnahme von 500 ccm Leitungswasser.

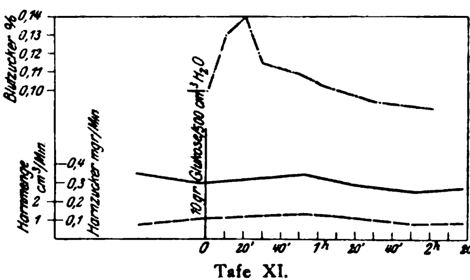



Tafel X. Zweimal 500 ccm Wasser nach 14stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.

| Ausscheidungszeit | |
|---|---|
| 2 Stunden | |
| 3 „ | |
| 4 „ | |
| Harnzucker | Harnmenge |
| 49 mg | 642 ccm |
| 87 „ | 1233 „ |
| 96 „ | 1320 „ |

Nach der ersten wie nach der zweiten Wassereinnahme zeigt sich eine Ausschwemmungsglykurese.

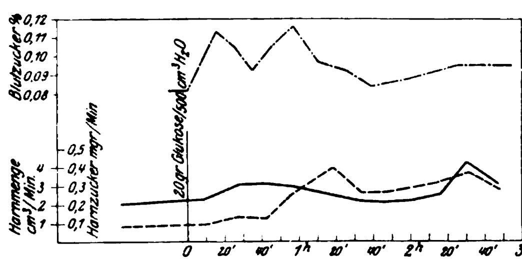



Tafel XI.
10 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 14stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Min.
——— Harnzuckermenge pro Min.
- - - - - - Blutzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | |
|---|---|
| 2 Stunden | |
| Harnzucker | Harnmenge |
| 38 mg | 142 ccm |

Die Glykurese ist geringer als diejenige des Ausschwemmungsversuches. (Tafel VIII.) Deutliche Hyperglykämie.




Tafel XII. 20 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 14stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.
- - - - - - - Blutzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | |
|---|---|
| 2 Stunden | |
| 3 „ | |
| Harnzucker | Harnmenge |
| 31 mg | 320 ccm |
| 50 „ | 500 „ |

Glykurese nur angedeutet. Sie ist geringer als diejenige des Ausschwemmungsversuches (Tafel VIII) oder nach Einnahme von 10 g Glucose (Tafel XI).

Aus technischen Gründen konnten Blut- und Harnzucker nicht gleichzeitig bestimmt werden, so daß hier, ausnahmsweise, Blut- und Harnzuckerkurven aus zwei analogen Versuchen zusammengesetzt werden mußten.

ausscheidung nach einer gemischten Mahlzeit in 10- bis 15minutigen Intervallen untersucht, eine Steigerung derselben zutage tritt, die sich besonders deutlich bei Betrachtung der in der Zeiteinheit ausgeschiedenen Zuckerquantität ausdrückt, viel weniger dagegen in einer Änderung der Konzentrationsverhältnisse.

2. Versuche mit 14stündiger Karenzzeit.

In Tafel VI fiel schon die Ähnlichkeit der diuretischen und der glykuretischen Kurve auf. Es war deshalb nicht von vornherein von der Hand zu weisen, daß die Zuckerausscheidung eventuell von der Harnmenge, oder umgekehrt diese von der Glykurese beeinflußt werde. *Benedict* sowohl wie *Folin* verneinen diese Fragestellung zwar sehr nachdrücklich. Trotzdem wurde der Einfluß von 500 ccm Leitungswasser[1]) auf die Harnzuckerausscheidung untersucht.

*Tafel VIII* zeigt das Resultat eines solchen „*Ausschwemmungsversuches*“. Etwa ½ Stunde nach Einnahme des Wassers tritt eine deutliche Ausscheidungsglykurese auf, welche 1 bis 1½ Stunden anhält. Diurese und Glykurese laufen ungefähr parallel, ihre Maxima fallen zeitlich zusammen. Aus der gestrichelten Kurve läßt sich gar nichts ersehen und, da in den übrigen Versuchen die Konzentrationskurve immer einen unregelmäßigen Verlauf hat, so habe ich sie in den folgenden Tafeln nicht mehr eingezeichnet. — Wasseraufnahme hat nach *Staub* (1), *Jacobsen* (9) u. a. keinen Einfluß auf die Blutzuckerkurve. Tafel VIII scheint dies zu bestätigen.

*Tafel IX.* Um zu beweisen, daß die Ausschwemmungsglykurese nicht eine Abnormität der Versuchsperson darstellt, wurde ein gleicher Versuch wie in Tafel VIII auch an *H. Sch.* ausgeführt. Auch bei ihm tritt diese Erscheinung auf. Der Verlauf der Kurven entspricht demjenigen von Tafel VIII. Die Blutzuckerverhältnisse wurden in diesem Versuche nicht verfolgt.

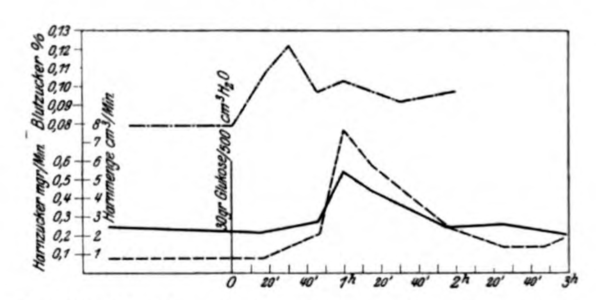
*Tafel X.* In der Hoffnung, die Körperzellen im wahrsten Sinne des Wortes total ausschwemmen zu können, so daß eine unmittelbar an die erste anschließende zweite Ausschwemmung keine Glykurese mehr bewirken würde, wurde ein Versuch mit doppelter Ausschwemmung gemacht. Tafel X zeigt das Resultat. Es findet auch nach der zweiten Aufnahme eine Glykurese statt, ob diese immer stärker als die vorausgehende ist, kann nicht mit Bestimmtheit behauptet werden, weil kleine Differenzen von unruhigem Verhalten während des Versuches herrühren können. Sicher aber tritt auch nach der zweiten Ausschwemmung deutliche Glykurese auf.

*Tafel XI bis XV* stellen nun Versuche mit steigender Glucosedosis dar, die Glucose immer in 500 ccm aqua dest. gelöst.

*Tafel XI.* 10 g Glucose machen keine oder nur eine sehr geringe Glykurese. Die Blutzuckerkurve zeigt den typischen, hyperglykämischen Anstieg. Maximum der Hyperglykämie 20 Minuten, der Harnzuckerausscheidung etwa 50 Minuten nach Einnahme der Dextroselösung.

*Tafel XII.* Die Glykurese nach Einnahme von 20 g Glucose ist sehr schwach ausgeprägt. Immerhin erscheint sie deutlicher als in Tafel XI. Im Gegensatz dazu beträgt die Ausscheidungsmenge in 2 Stunden in Tafel XI 38 mg, in Tafel XII 31 mg. Da andere, zum Teil hier nicht aufgeführte Versuche die letzteren Resultate als absolut zuverlässig erscheinen lassen, darf man wohl annehmen, daß die Harnzuckerkurve in Tafel XI

[1]) Das verschiedentlich zuckerfrei befunden wurde.

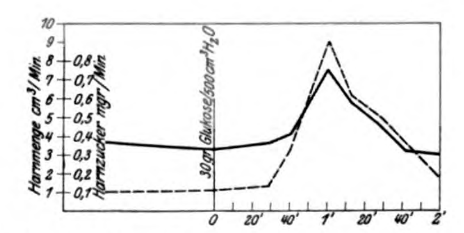



Tafel XIII. 30 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 14stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.
- · - · - · - Blutzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 52 mg | 430 ccm |
| 3 „ | 64 „ | 507 „ |

Die Glykurese übertrifft diejenige des Ausschwemmungsversuches (Tafel VIII). Maximum der Hyperglykämie 30 Minuten vor der maximalen Glykurese.

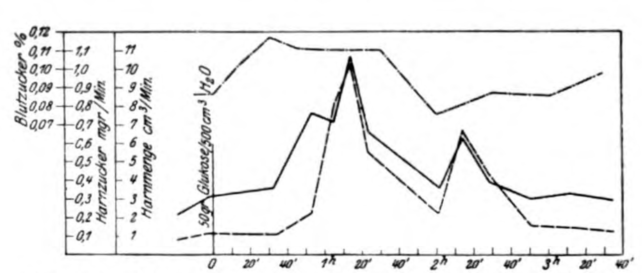



Tafel XIIIa. 30 g Glucose in 500 cm Wasser nach 14stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 53 mg | 498 ccm |

Deutliche Glykurese, welche quantitativ die Ausschwemmungsglykurese (Tafel VIII) übertrifft.




Tafel XIV. 50 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 14stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.
- · - · - · - Blutzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 66 mg | 419 ccm |
| 3 „ | 89 „ | 617 „ |

Starke Glykurese mit zweiter Zacke. Sehr lange anhaltende Hyperglykämie.

zu schwach modelliert ist, hauptsächlich weil infolge einer leichten Verdauungsstörung häufigeres Urinieren unmöglich war. Die Blutzuckerkurve zeigt eine zweizackige Hyperglykämie, wie sie auch von *Staub* beobachtet worden ist (1). Ein Vergleich der Blutzuckerkurven von Tafel XI und XII hat keinen Wert, da ja selbst Versuche mit konstanter Glucosedosis an der gleichen Person und unter gleichen Bedingungen ausgeführt, nicht identische Kurven ergeben (1).

Vergleicht man Tafel VIII, XI und XII, so ergibt sich daraus, daß *Steigerung* der Glucosedosis von 0 auf 20 g in 500 ccm Wasser die Harnzuckerausscheidung *vermindert.*

*Tafel XIII.* 30 g Traubenzucker machen eine deutliche Glykurese, welche sogar diejenige des Ausschwemmungsversuches (Tafel VIII) quantitativ übertrifft. Die Hyperglykämie hat nach 30, die Harnzuckerausscheidung nach 60 Minuten ihr Maximum erreicht.

*Tafel XIIIa)* stellt einen Kontrollversuch zu Tafel XIII dar. Die Kurven sind nicht absolut gleich, doch einander sehr ähnlich. Auch die in 2 Stunden ausgeschiedene Zuckermenge ist in beiden Versuchen beinahe die gleiche.

*Tafel XIV.* Erhöhung der Traubenzuckerdosis auf 50 g ruft eine Vermehrung der Glykurese hervor. Eine schon in einigen der vorhergehenden Kurven leicht angedeutete *zweite* Zacke der Harnzuckerkurve (zwischen der zweiten und dritten Stunde) ist hier deutlich ausgeprägt. Die Hyperglykämie erreicht keine hohen Werte, dauert aber um so länger an.

*Tafel XV.* 100 g Dextrose verursachen eine ganz bedeutende Glykurese, die ihr Maximum schon nach 50 Minuten erreicht hat. Auch die Blutzuckerkurve zeigt einen raschen und hohen Anstieg.

Eine *Vermehrung* der Traubenzuckerdosis von 30 auf 100 g in 500 ccm aqua dest. hat eine ausgesprochene *Steigerung* der Zuckerelimination zur Folge.

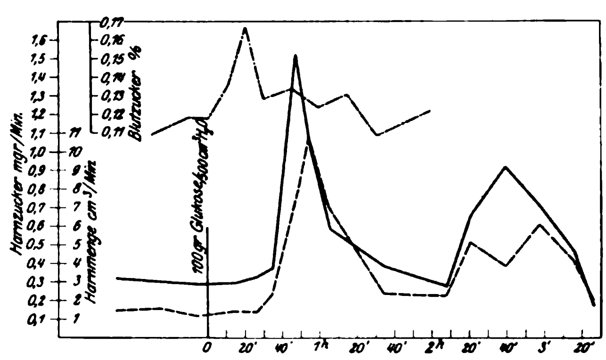
*Tafel XVI.* Um die Ansicht zu stützen, daß die Glykurese nach Einnahme größerer Dextrosedosen spezifisch von der eingeführten Glucose abhänge und nicht einfach ein osmotisches Phänomen sei, wurde eine Kochsalzlösung getrunken, die mit einer Lösung von 100 g Glucose in 500 ccm aqua dest. isotonisch war. Diese bewirkte allerdings profuse Diarrhöe. Im Blute (Mikro-*Bang*, 18) und im Harn konnte eine Vermehrung der Chloride nachgewiesen werden. Es war also gelungen, eine Änderung in der Molekularzusammensetzung des Blutes hervorzurufen, die Glykurese blieb aber trotzdem aus. Das gegenteilige Resultat wäre zwar nicht absolut überraschend gewesen, behauptet doch *Lépine* (27), daß Injektion von Salzlösung Hyperglykämie mache.

Aus den Versuchen mit 14stündiger Karenz geht hervor, daß die *Assimilationsgrenze für Glucose für G. C.* unter 30 und über 20 g Glucose/500 ccm qaua dest. liegt. Ist es Zufall, daß eine 5,6proz. Traubenzuckerlösung (75) = 28,0 g Glucose in 500 ccm aqua dest. isotonisch mit Serum ist[1])?

### 3. Versuche mit fünfstündiger Karenzzeit.

*Tafel XVII.* Auch nach fünfstündiger Karenzzeit tritt eine ausgesprochene Ausschwemmungsglykurese ein. Auffallend im Vergleich zu

[1]) Nach *W. M. Bayliss* (38) ist eine 5,4proz. Traubenzuckerlösung isotonisch.

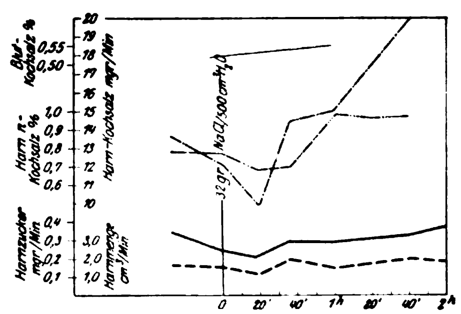



Tafel XV. 100 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 14 stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.
- · · - · · Blutzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 64 mg | 440 ccm |
| 3 „ | 106 „ | 725 „ |

Starke Glykurese mit zweiter Zacke. Hohe Hyperglykämie.

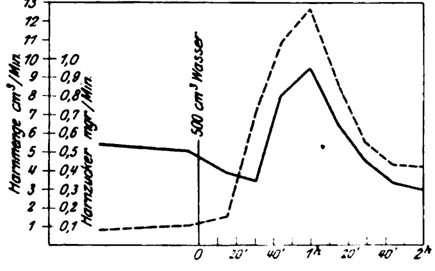



Tafel XVI. 32 g Kochsalz in 500 ccm Wasser nach 14 stündiger Karenz.

G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.
- - - - - - Kochsalzmenge im Harn pro Minute.
- · · · - · · · Kochsalzkonzentration im Harn.
- - Kochsalzkonzentration im Blut.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge | Kochsalz |
|---|---|---|---|
| 2 Stunden | 38 mg | 224 ccm | 1,95 g |

Eine Glykurese fehlt. Der Chloridgehalt des Blutes steigt an. Mächtige Vermehrung der Chloridausscheidung durch den Harn, so daß selbst die Chloridkonzentration erhöht wird.




Tafel XVII. 500 ccm Leitungswasser nach 5 stündiger Karenz.

A. G. — — — Harnmenge pro Min.
——— Harnzuckermenge pro Min.

Ausscheidungszeit 2 Stunden

| Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|
| 66 mg | 835 ccm |

Auch nach 5 stündiger Karenzzeit tritt deutliche Ausschwemmungsglykurese auf.

den Versuchen nach 14stündigem Nüchternsein ist der etwas hohe Ausgangswert der Harnzuckerkurve.

*Tafel XVIII* bis *XIX*. Einnahme von 50 g Glucose macht nur eine sehr geringe Glykurese und bei 100 g Dextrose ist diese noch unbedeutender. Die Kurven XVII bis XIX verhalten sich zueinander analog denjenigen der Tafeln VIII, XI und XII, d. h. eine Steigerung der Glucosezufuhr hat eine Verminderung der Zuckerausscheidung zur Folge.

Daß diese anfänglich überraschenden Resultate nicht auf einer Stoffwechselanomalie der Versuchsperson beruhen, geht aus den folgenden, an *G. C.* angestellten Untersuchungen hervor.

*Tafel XX*. Wie *A. G.*, so zeigt auch *G. C.* nach fünfstündiger Karenz eine markante Ausschwemmungsglykurese. Der Blutzuckerspiegel zeigt geringe Schwankungen, die aber wohl in keinem Zusammenhang mit der Wasseraufnahme stehen.

*Tafel XXI*. Während 100 g Traubenzucker nach 14stündiger Karenz eine starke Glykurese hervorrufen, so fehlt diese nach 5 Stunden Karenzzeit. Eine zweite Zacke ist schwach angedeutet. Die Blutzuckerkurve zeigt keine Besonderheiten.

Nach den Angaben von *Staub* (2) sollte in Tafel XXI eine stärkere Hyperglykämie auftreten als in Tafel XV, da ja die Kohlehydratassimilationsfähigkeit des Organismus 5 Stunden nach einer Mahlzeit geringer ist als nach 14 Stunden. Auf diesen scheinbaren Widerspruch meiner Kurven werde ich in anderem Zusammenhange zurückkommen (vgl. S. 102).

*Tafel XXII*. 150 g Glucose machten leichte Diarrhöe, was häufiges Urinieren verunmöglichte und die Diurese herabsetzte. Dies ist wahrscheinlich der Grund, weshalb die glykuretische Zacke nicht stärker ausgeprägt ist. Wesentlich ist, daß bei 150 g Glucose Glykurese stattfindet, und bei 100 g nicht, daß also die Assimilationsgrenze zwischen diesen beiden Werten liegt, was übrigens noch deutlicher aus Tafel XXIII hervorgeht.

*Tafel XXIII* stellt die Zahlen aller Versuche tabellarisch zusammen. Auch daraus ergibt sich, daß Tafel XI, XII, XVIII, XIX, XXI verminderte Diurese und Zuckerausscheidung zeigen im Vergleich zu den zugehörigen Ausschwemmungsversuchen (Tafel VIII, XVII, XX). Die Harnmengen von Versuch XI und XXII sind durch Verdauungsstörung etwas vermindert. Unterhalb der Assimilationsgrenze setzt Steigerung der Glucosedosis die Diurese und die Glykurese herab, oberhalb aber werden sie vermehrt, und dann übertreffen sie auch die Werte der Ausschwemmungsversuche.

Die Diskrepanz zwischen der gestrichelten und der ausgezogenen Kurve von Tafel VI und der Vergleich der absoluten Werte von Tafel VI mit denjenigen von Tafel VIII lassen es als wahrscheinlich erscheinen, daß durch die gemischte Mahlzeit die Assimilationsgrenze überschritten wurde.

Es ergibt sich aus den Versuchen:

1. daß reine Ausschwemmung eine Glykurese hervorruft, unabhängig von der Karenzzeit;

2. daß die Quantität des ausgeschiedenen Zuckers abnimmt bei Vermehrung der peroral zugeführten Glucosemenge, bis dieselbe einen bestimmten Wert, denjenigen der Assimilationsgrenze, erreicht hat. Steigerung darüber hinaus hat dann umgekehrt auch eine Zunahme der Harnzuckermenge zur Folge.

Tafel XVIII. 50 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 5 stündiger Karenz.
A. G. — — — Harnmenge pro Min.
——— Harnzuckermenge pro Min.

| Ausscheidungszeit | |
|---|---|
| 2 Stunden | |
| Harnzucker | Harnmenge |
| 53 mg | 512 ccm |

Die Glykurese ist schwächer als diejenige im Ausschwemmungsversuch (Tafel XVII).

Tafel XIX. 100 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 5 stündiger Karenz.
A. G. — — — Harnmenge pro Min.
——— Harnzuckermenge pro Min.

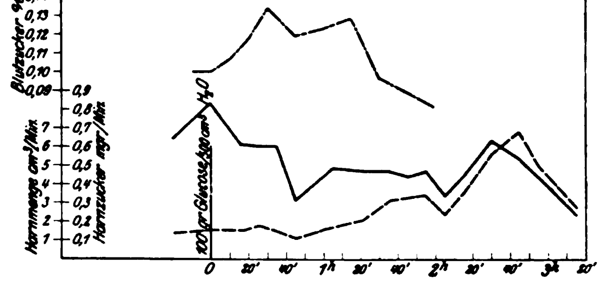
| Ausscheidungszeit | |
|---|---|
| 2 Stunden | |
| Harnzucker | Harnmenge |
| 45 mg | 479 ccm |

Glykurese noch geringer als nach Einnahme von 50 g Dextrose (Tafel XVIII).

Tafel XX. 500 ccm Leitungswasser nach 5 stündiger Karenz.
G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.
-·-·-·- Blutzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 69 mg | 490 ccm |
| 3 „ | 84 „ | 721 „ |

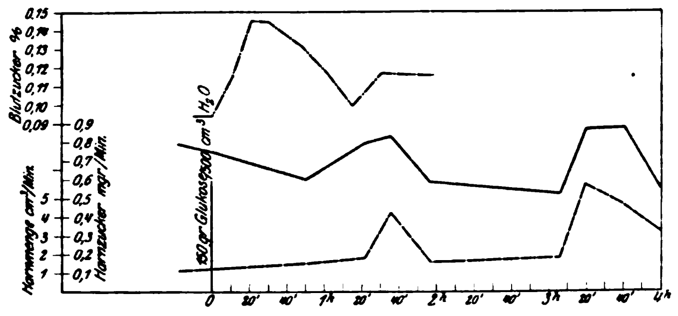
Kräftige Ausschwemmungsglykurese. Leichte Schwankungen des Blutzuckerspiegels, die wohl in keinem Zusammenhange mit der Ausschwemmung stehen.




Tafel XXI. 100 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 5 stündiger Karenz.
G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge pro Minute.
-·-·-·- Blutzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 60 mg | 260 ccm |
| 3 „ | 90 „ | 568 „ |

Glykurese fehlt, trotz deutlicher Hyperglykämie.



Tafel XXII. 150 g Glucose in 500 ccm Wasser nach 5 stündiger Karenz.
G. C. — — — Harnmenge pro Minute.
——— Harnzuckermenge.
‑‑‑‑‑‑ Blutzuckerkonzentration.

| Ausscheidungszeit | Harnzucker | Harnmenge |
|---|---|---|
| 2 Stunden | 81 mg | 221 ccm |
| 3 „ | 111 „ | 338 „ |
| 4 „ | 154 „ | 608 „ |

Erkennbare Glykosurie mit zweiter Zacke. Starke Hyperglykämie.

3. Die Ausscheidung des Harnzuckers unterhalb der Assimilationsgrenze entspricht wohl einem Ausschwemmungsvorgang, so daß sie nicht von der eingeführten Glucose, sondern lediglich von der Diurese abhängt. Nur die Glykurese oberhalb des Schwellenwertes steht in erster Linie, aber auch nicht ausschließlich, unter dem Einfluß der aufgenommenen Traubenzuckermenge und stellt eine eigentliche Glykosurie dar, im strengsten Sinne des Wortes, eine Ausscheidung von Glucose.

4. Die Assimilationsgrenze variiert mit der Karenzzeit. Nach 14stündiger Karenz liegt sie für *G. C.* zwischen 20 und 30 g Glucose/500 ccm aqua dest.; nach fünfstündiger Karenz zwischen 100 und 150 g.

5. Die Glykurese erreicht ihr Maximum meist ½ Stunde nachdem die Hyperglykämie ihren Höchstwert überschritten hat.

6. Glykurese ist möglich, auch wenn keine Erhöhung des Blutzuckerspiegels ihr vorausgegangen ist (Tafel VIII und XX), und dieser kann sich umgekehrt gehoben haben, ohne daß die Glykurese stärker werden muß als dann, wenn er dies nicht tut (Tafel XI, XII und XXI).

7. Es ist wahrscheinlich, daß durch eine gemischte Mahlzeit, wie in Tafel VI z. B., die Assimilationsgrenze überschritten werden kann.

Es soll noch kurz auf die Ausschwemmung und die Beziehungen zwischen Karenzzeit und Assimilationsgrenze eingegangen werden.

### C. *Über Ausschwemmung.*

Es gibt in der Literatur einzelne Befunde, die vielleicht eine Möglichkeit geben, die hier beobachtete Ausschwemmung zu erklären. So haben, wie ich zwar teilweise schon erwähnte, *Wilenko* (89), *Bock* und *Hoffmann* (90) nach Infusion von Kochsalzlösung Glykosurie beobachtet. *I. Bang* (6) hält das Kochsalz für einen Aktivator der Leberdiastase, und die Glykosurie nach Kochsalzinfusion, falls sie keine emotionelle ist, wäre schließlich so zu erklären. Merkwürdiger ist noch die Blutzuckererhöhung nach Einnahme von zuckerfreiem Tee (20). *Jacobj* (86) hat durch Diuretika Glykosurie bei Tieren zu erzeugen vermocht. Nach *O. Loewi* (91) scheiden Kaninchen bei jeder Diurese Zucker aus, und zwar infolge von Hypergly-

*Tafel XXIII.*

Übersicht über die Versuche.

| Tafel | Person | Dosis | Karenz | Nach 2 Stunden Harnmenge ccm | Nach 2 Stunden Zuckermenge mg | Nach 3 Stunden Harnmenge ccm | Nach 3 Stunden Zuckermenge mg | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VI | *G. C.* | gemischte Mahlzeit | 14 Std. | 189 | 79 | 322 | 135 | Glykurese + |
| VIII | „ | 500 ccm Wasser | 14 Std. | 405 | 44 | 476 | 58 | „ + Hyperglykämie — |
| IX | *H. Sch.* | dasselbe | 14 Std. | 797 | 61 | 920 | 72 | „ + |
| X | *G. C.* | 2×500 ccm Wasser | 14 Std. | 642 | 49 | 1233 | 87 | „ + |
| XI | „ | 10 g Gl | 14 Std. | 142 | 38 | — | — | „ + kleiner als in Tafel VIII. Hyperglykämie + |
| XII | „ | 20 „ „ | 14 Std. | 320 | 31 | 500 | 50 | „ + „ „ „ „ VIII u. XI. Hyperglykämie + |
| XIII | „ | 30 „ „ | 14 Std. | 430 | 52 | 507 | 64 | „ + größer „ „ „ VIII. Hyperglykämie + |
| XIIIa | „ | 30 „ „ | 14 Std. | 498 | 53 | — | — | „ + „ „ „ „ VIII |
| XIV | „ | 50 „ „ | 14 Std. | 419 | 66 | 617 | 89 | „ + „ „ „ „ VIII u. XIII. Hyperglykämie + |
| XV | „ | 100 „ „ | 14 Std. | 440 | 64 | 725 | 106 | „ + „ „ „ „ VIII, XIII und XIV. Hyperglykämie + |
| XVI | „ | 32 g NaCl | 14 Std. | 224 | 38 | — | — | „ — Chloridgehalt in Harn und Blut steigt |
| XVII | *A. G.* | 500 ccm Wasser | 5 Std. | 834 | 66 | — | — | „ + |
| XVIII | „ | 50 g Gl | 5 Std. | 512 | 53 | — | — | „ + kleiner als in Tafel XVII |
| XIX | „ | 100 g „ | 5 Std. | 479 | 45 | — | — | „ + „ „ „ „ XVII und XVIII |
| XX | *G. C.* | 500 ccm Wasser | 5 Std. | 490 | 69 | 721 | 84 | „ + Hyperglykämie — |
| XXI | „ | 100 g Gl | 5 Std. | 260 | 60 | 568 | 90 | „ — „ + |
| XXII | „ | 150 „ „ | 5 Std. | 226 | 81 | 338 | 111 | „ in der Kurve angedeutet, bei Betrachtung der Gesamtausscheidung aber deutlich + und größer als in Tafel XX und XXI. Hyperglykämie + |

kämie. Aber es ist natürlich bei Tierexperimenten sehr schwer, wenn nicht unmöglich, die emotionelle Komponente auszumerzen. Eine Möglichkeit, die Ausschwemmungsglykurese zu erklären, gibt *Cushny*[1]), indem er, die *Ludwig*sche Theorie verfechtend, ausführt, daß, wenn die Filtration in den Glomeruli sehr rasch vor sich gehe, unter Umständen die Rückresorption nur unvollständig funktioniere.

Vielleicht ist der Mechanismus der Ausschwemmung auch gleich derjenigen, welche von *Rulon* und *Hawk* (92) für die Ausschwemmung der Chloride oder von *R. Rosemann* (93) für den Stickstoff angenommen werden. Diese betrachten die Blutverdünnung als Reiz auf die Gewebe, welcher, nach dem letzteren, einfach den Stoffwechsel verstärkt, nach den ersteren, Kochsalz ins Blut zieht und mit der überschüssigen Flüssigkeitsmenge ausscheidet.

Ebenso könnten unter Umständen die Untersuchungen von *Hamburger* und *Brinkman* (67) über die Variabilität der Nierenpermeabilität zur Erklärung der Ausschwemmung von Zucker und der Schwankungen der Assimilationsgrenze herangezogen werden. Ziemlich klar liegen die Verhältnisse, wenn man mit *Folin* und *Berglund* (15) annimmt, daß die Glykurese nach Einnahme von Dosen, die unter der Toleranzgrenze liegen, durch fremde, mit dem Kohlehydratstoffwechsel nichts gemein habende, von der vorausgehenden Mahlzeit stammende Körper bedingt sei, und daß die eigentliche Traubenzuckerausscheidung erst oberhalb des Schwellenwertes beginne. Diese Annahme wird möglicherweise gestützt durch die Tatsache, daß der „Nüchternwert" des Harnzuckers nach fünfstündiger Karenz größer ist als nach 14stündiger, trotzdem im ersteren Falle die Assimilationsgrenze bedeutend höher liegt. Es würde sich also bei Glykurese unterhalb des Schwellenwertes um Ausschwemmung von uns unbekannten Stoffen handeln, ganz analog zur Kochsalz- und Harnstoffausscheidung bei Diurese. Erst oberhalb der Toleranzgrenze würde Ausscheidung von Glucose eintreten. Dafür, daß es sich in diesem Falle wirklich um solche handelt, spricht ihr paralleles Verhalten zur zugeführten Menge doch sehr. Erst von diesem Punkte an hätten wir dann eigentliche Glykosurie.

Angenommen, es handle sich, im Gegensatz zu der Ansicht von *Folin* und *Berglund*, auch bei der Ausschwemmungsglykurese um eine Ausscheidung von reinem Traubenzucker, so würde damit der Begriff des Nierenschwellenwertes hinfällig, nicht aber, dies sei besonders betont, der Begriff der Assimilationsgrenze. Wie wäre dann aber das gegensätzliche Verhalten von Assimilationsgrenze und Assimilationsfähigkeit, von welchem im nächsten Abschnitt die Rede sein wird, zu erklären?

### D. *Über den Unterschied in der Assimilationsgrenze bei 5- und bei 14stündiger Karenzzeit.*

Wie ich bereits einmal angeführt habe, macht *Naunyn* (64) darauf aufmerksam, daß im nüchternen Zustande die Assimilationsgrenze herabgesetzt sei. Die auch schon zitierten Versuche *Benedicts* (55) mit nüchternem Frühstück und mit Frühstück nach vorausgegangener Glucoseeinnahme weisen dieselben Wege[2]). Ebenso tut dies die Beobachtung *Breuls* (59), daß eine Kohlehydratmahlzeit, welche nach 23stündiger Karenzzeit eingenommen wird, außerordentlich starke Zuckerausscheidung zur Folge hat[3]).

[1]) Zitiert nach *Bayliss* (38).
[2]) Vgl. S. 84.
[3]) Vgl. S. 78.

*H. Staub* (2) führt aus, daß in der 10. bis 15. Karenzstunde die Assimilations*fähigkeit* des Organismus am größten sei, unmittelbar nach einer Kohlehydratmahlzeit bis zur 5. bis 10. Stunde aber sei sie herabgesetzt. Ist dem wirklich so, dann ist die Assimilations*grenze* gerade zu der Zeit erhöht, da die Assimilationsfähigkeit vermindert ist. *Es verhalten sich also Assimilationsgrenze und Assimilationsfähigkeit gegensätzlich zueinander.* Die Ursache hierfür ist nicht bekannt, ihr Zweck scheint aber auf der Hand zu liegen. Ist die Toleranzgrenze nicht eben gerade deshalb erhöht, weil die Assimilationsfähigkeit herabgesetzt ist, um so den Organismus vor Verlust wertvollen Materials zu schützen?

Man möchte einwenden, daß bei meinen Versuchen mit 100 g Glucose nach 5- (Tafel XXI) und nach 14stündiger (Tafel XV) Karenz keine solche Differenz in den Blutzuckerkurven bestehe, welche es gestatten würde, einen Unterschied in der Assimilationsfähigkeit, in gleichem Sinne wie es *Staub* tat, daraus herauszulesen. Da muß man aber berücksichtigen, daß die Resorptionsverhältnisse für 20 g Traubenzucker, wie sie in den *Staub*schen Versuchen zur Anwendung kommen, mit der Karenz nicht wechseln, für 100 g ist dies aber fraglich, nähert sich diese Quantität doch schon dem von *Woodyatt* angegebenen Grenzwert[1]). Es ist auf jeden Fall unvorsichtig, bei Versuchen, bei welchen es auf konstante Dosierung, aber wechselnde äußere Verhältnisse ankommt, mit größeren Glucosemengen zu operieren, hingegen sind solche natürlich da unumgänglich, wo die Wirkungen steigender Dosen verfolgt werden. Es ist also anzunehmen, daß trotz der Blutzuckerkurven von Tafel XV und XXI der Organismus von *G. C.* nach fünfstündiger Karenzzeit eine geringere Assimilationsfähigkeit hatte als nach 14 Stunden, und daß die hohe Toleranzgrenze eine Schutzfunktion darstellt, die im Hunger wahrscheinlich verloren geht (Hungerdiabetes. Vagantendiabetes).

## III. Zusammenfassung.

### *A. Befunde.*

1. *Die Harnzuckerausscheidung läßt sich durch Serienuntersuchungen unter Berücksichtigung der in der Zeiteinheit ausgeschiedenen Menge gut verfolgen. Beobachtung der Änderungen in der Harnzuckerkonzentration aber ergibt meist keine deutbaren Resultate.*

2. *Eine gemischte Mahlzeit ist von einer deutlichen Glykurese gefolgt.*

3. *Einnahme von reinem Leitungswasser ruft eine Ausschwemmungsglykurese hervor, die ihr Maximum nach etwa einer Stunde erreicht.*

4. *Es existiert eine Assimilationsgrenze.*

5. *Die Assimilationsgrenze ist bei ein und demselben Individuum variabel. Sie hat nach fünfstündiger Karenz einen bedeutend höheren Wert als nach 14stündigem Nüchternsein.*

6. Für *G. C.* liegt sie nach fünfstündiger Karenz zwischen 100 bis 150 g Glucose/500 ccm aqua dest., nach 14 Stunden zwischen 20 bis 30 g Glucose/500 ccm aqua dest.

7. *Weniger konzentrierte Lösungen machen nur Ausschwemmungsglykurese, erst Lösungen mit höherer Konzentration rufen eigentliche Glykosurie hervor.*

---

[1]) Vgl. S. 82.

8. *Die ersteren nehmen mit Steigerung der Konzentration ab, die letzteren zu.*

9. *Die Blutzuckerkurve erreicht ihren maximalen Wert ungefähr eine halbe Stunde vor der Harnzuckerkurve.*

B. *Schlußfolgerungen.*

1. Bei der Ausschwemmungsglykurese handelt es sich *möglicherweise* um die Ausschwemmung von Stoffen, die mit dem Kohlehydratstoffwechsel direkt nichts zu tun haben. In diesem Falle würde erst oberhalb der Assimilationsgrenze reine Glucose ausgeschieden.

2. Die Änderung der Assimilationsgrenze mit der Karenzzeit stellt vielleicht eine Schutzeinrichtung des Organismus dar, der durch Hebung der Assimilationsgrenze Verluste vermeidet, die ihm zufolge von verminderter Kohlehydratassimilationsfähigkeit drohen.

**Literatur.**

1) *H. Staub*, Zeitschr. f. klin. Med. **91**, 44, 1921. — 2) *Derselbe*, ebendaselbst **93**, 89, 1922. — 3) *Derselbe*, ebendaselbst S. 123. — 4) *Derselbe*, diese Zeitschr. **118**, 93, 1921. — 5) *A. Punschel*, Zeitschr. f. klin. Med. **96**, 253, 1923. — 6) *I. Bang*, diese Zeitschr. **49**, 40/81, 1913. — 7) *Derselbe*, Der Blutzucker. Wiesbaden 1913. — 8) *Derselbe*, Mikromethoden zur Blutuntersuchung, S. 30. München 1920. — 9) *A. Th. Jacobsen*, diese Zeitschr. **56**, 471, 1913. — 10) *W. Löffler*, ebendaselbst **127**, 316, 1922. — 11) *A. E. Taylor* und *F. Hulton*, Journ. of biol. Chem. **25**, 173, 1916. — 12) *L. Hamman* und *J. J. Hirschman*, Arch. Int. Med. **20**, 761, 1917. — 13) *O. Folin* und *H. Wu*, Jorun. of biol. Chem. **41**, 367, 1920. — 14) *O. Folin* und *H. Berglund*, ebendaselbst **51**, 209, 1922. — 15) *Dieselben*, ebendaselbst S. 213. — 16) *O. Folin, Denis* und *Smellie*, ebendaselbst **17**, 519. — 17) *Gunnar Boe*, diese Zeitschr. **56**, 106, 1913. — 18) *P. B. Hawk*, Arch. Int. Med. **7**, 536, 1911. — 19) *Derselbe*, ebendaselbst **8**, 382, 1911. — 20) *Cammidge, Forsyth* und *Howard*, Brit. med. Journ. **2**, 586, 1921. — 21) *Einar Langfeldt*, Journ. of biol. Chem. **46**, 385, 1921. — 22) *A. Mertz*, Arch. f. Kinderheilk. **8**, 68. — 23) *E. Frank*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **70**, 129/291, 1910/11. — 24) *Derselbe*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **71**, 387, 1913. — 25) *Brösamlen* und *Sterkel*, Arch. f. klin. Med. **130**, 380, 1913. — 26) *J. Löwy*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **120**, 131, 1916. — 27) *R. Lépine*, Le sucre du sang. Paris 1921. — 28) *Pavy*, Physiologie der Kohlehydrate, S. 178, 1895. — 29) *Pavy* und *Siau*, Journ. Physiol. **26**, 282, 1900/01. — 30) *Pavy*, On carbohydrate Metabolism. London 1906. — 31) *W. Stepp*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **97**, 213, 1916. — 32) *Derselbe*, ebendaselbst **107**, 264. — 33) *Derselbe*, ebendaselbst **109**, 99. — 34) *W. Stepp* und *E. Dielschlag*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **136**, 66, 1921. — 35) *W. Stepp* und *R. Feulger*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **119**, 172, 1922. — 36) *Henriques* und *Ege*, diese Zeitschr. **119**, 121, 1921. — 37) *W. M. Bayliss*, Principles General Physiology 1920. — 38) *Derselbe*, Introduction General Physiology 1919. — 39) *Kolisch*, Verhandl. Congr. f. inn. Med. 1900, S. 578. — 40) *Schenck*, Pflügers Arch. **48**, 621, 1890. — 41) *C. v. Noorden*, Zuckerkrankheit. Berlin 1917. — 42) *F. Moritz*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **44**, 217, 1890. — 43) *K. Baisch*, Zeitschr f. physiol. Chem. **19**, 339, 1894. — 44) *Derselbe*, ebendaselbst **20**,

248, 1895. — 45) *Rosenfeld*, Deutsch. med. Wochenschr. 1888, S. 451. — 46) *Shaffer* und *Hartmann*, Journ. of biol. Chem. **45**, 365, 1920/21. — 47) *B. Oppler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**, 71, 1911. — 48) *P. Bohmannson*, diese Zeitschr. **19**, 281, 1909. — 49) *C. Neuberg* und *W. Neimann*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 97, 1905. — 50) *S. Nagasaki*, ebendaselbst **95**, 61, 1915. — 51) *J. B. Sumner*, Journ. of biol. Chem. **47**, 1921. — 52) *J. Neuwirth*, ebendaselbst **51**, 11, 1922. — 53) *S. R. Benedict*, *E. Osterberg* und *J. Neuwirth*, ebendaselbst **84**, 217. — 54) *S. R. Benedict* und *E. Osterberg*, ebendaselbst **34**, 195, 1918. — 55) *S. R. Benedict*, *E. Osterberg* und *J. Neuwirth*, ebendaselbst S. 209. — 56) *S. R. Benedict* und *E. Osterberg*, ebendaselbst **48**, 51, 1921. — 57) *Hoppe-Seyler*, Physiol. pathol. chem. Analyse, 6. Aufl., 1893. — 58) *Derselbe*, Kongr. f. inn. Med. **1902**, S. 384. — 59) *L. Breul*. Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **40**, 1, 1898. — 60) *Schöndorff*, Pflügers Arch. **121**, 572, 1908. — 61) *Hilding Lavesson*, zit. nach *Neubauer* und *Huppert*, Analyse des Harns **1**, Wiesbaden 1910. — 62) *Hannah Felsher*, Journ. of biol. Chem. **50**, 121, 1922. — 63) *Cohnheim* und *Klee*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **78**, 464, 1912. — 64) *B. Naunyn*, Diabetes mellitus. Wien 1906. — 65) *Frank* und *Nothmann*, Münch. med. Wochenschr. 1920, S. 1433. — 66) *L. Wacker*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**, 197, 1910. — 67) *Hamburger* und *Brinkman*, diese Zeitschr. 88, 97, 1918. — 68) *F. Hofmeister*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **25**, 240, 1889. — 69) *Derselbe*, ebendaselbst **26**, 355, 1889. — 70) *R. T. Woodyatt*, *W. P. Sansum* und *R. M. Wilder*, Journ. of the Amer. Med. Assoc. **65**, 2067, 1915. — 71) *E. Rainmann*, Wien. klin. Wochenschr. **13**, 175, 1900. — 72) *F. M. Allen*, Glycosuria and Diabetes. Cambridge 1913. — 73) *v. Brasol*, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1884, S. 210. — 74) *Nonnenbruch* und *Szyszka*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **86**, 281, 1920. — 75) *W. H. Veil*, diese Zeitschr. **91**. — 76) *W. Lipschitz*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **85**, 359, 1920. — 77) *Worm-Müller*, Pflügers Arch. **34**. — 78) *F. Voit*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **58**, 523, 1897. — 79) *Thannhauser* und *Pfitzer*, Münch. med. Wochenschr. 1913, S. 2155. — 80) *K. Goto* und *N. Kuno*, Arch. Int. Med. **27**, 224, 1921. — 81) *Claude Bernard*, Leçons sur le diabète. Paris 1877. — 82) *Hagedorn*. Acta med. Scand. **53**, 672, 1921. — 83) *L. Ambard*, Physiologie des Reins. Paris 1921. — 84) *W. R. Hess*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **119**, 172, 1922. — 85) *H. Eppinger*, Zur Pathologie und Therapie des menschlichen Ödems. 1917. — 86) *C. Jacobj*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **35**, 213, 1895. — 87) *H. Ruoss*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 193, 1918. — 88) *V. C. Myers* Proc. soc. exper. Biol. u. Med. 8, 178, 1915/16. — 89) *Wilenko*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **66**, 1911. — 90) *Bock* und *Hoffmann*, Experimentalstudien über Diabetes. Berlin 1879. — 91) *O. Loewi*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **48**, 410, 1902. — 92) *S. A. Rulon* und *P. B. Hawk*, Arch. Int. Med. **7**, 536, 1911. — 93) *R. Rosemann*, Pflügers Arch. **65**, 343, 1897.

# Die Blutgerinnung als Agglutinationsprozeß[1]).

Von

**E. Hekma.**

(Aus dem physiologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn, Holland.)

*(Eingegangen am 24. September 1923.)*

Weitere Untersuchungen und Erwägungen haben mich zu einer — meine auf Grund früherer Untersuchungen[2]) erhaltenen Ansichten ergänzende — Vorstellung betreffs des Wesens des Fibrin- und Blutgerinnungsvorganges geführt, die folgendermaßen zusammengefaßt werden kann.

Das Fibrinogen ist in dem Blutplasma enthalten in der Form von Amikronen, die sich in einem Hydratationszustande, einem mit Wasser durchtränkten und deswegen gequollenen, Zustande befinden, unter dem Einfluß von adsorbiert gehaltenen OH'-Ionen. Reines Plasma, also Plasma, in welchem keine oder bloß Spuren von Blutplättchen und (oder) Leucocytenbestandteilen (bzw. beim Vogelblut Gewebebestandteile) übergetreten sind, ist ein praktisch stabiles Sol.

Demzufolge bleibt das strömende Blut flüssig, solange keine ausgiebige Wechselwirkung stattfindet zwischen dem Plasma einerseits und Zerfallsprodukten von Blutplättchen und (oder) Leucocyten, bzw. der Gefäßwand oder Gewebe, andererseits.

Unter den mancherlei Bestandteilen, die bei dem der Gerinnung des Blutes vorangehenden massenhaften Zerfall von Blutplättchen und Leucocyten in das Plasma geraten, findet sich unter anderem

---

[1]) Erscheint demnächst ausführlicher in: Arch. Néerlandaise de Physiologie de l'homme et des animaux.

[2]) Versl. K. Akad. van Wetenschappen te Amsterdam **16**, 172, 1913; diese Zeitschr. **62**, 161, 1914; **63**, 158, 204, 1914; **64**, 86, 1914; **65**, 34, 1914; **73**, 370, 426, 1916; **74**, 63, 219, 1916; **77**, 249, 256, 275, 1916; Intern. Zeitschr. f. physik.-chem. Biol. **2**, 279, 299, 352, 1915; **3**, 122, 1917; Versl. K. Akad. van Wetenschappen te Amsterdam **25**, 671. 1916.

eine dehydratierende Substanz und Thrombin bzw. die Grundsubstanz, die zu der Bildung des Thrombins beiträgt.

Das Thrombin wäre kein (Fibrin-) Ferment, sondern eine Klebesubstanz, ein *Agglutinin*. Die Frage nach der chemischen Natur dieses Stoffes (Phosphatid ? Nucleoprotein ? Globulin ?) möge vorläufig dahingestellt bleiben; nur sei bemerkt, daß es sich dabei offenbar um ein hydrophiles Kolloid handelt.

Die Wirkung dieses Agglutinins kann zur Äußerung kommen in kalkfreien Flüssigkeiten; wird jedoch andererseits von Kalk gefördert, so daß gewissermaßen von einer „Aktivierung" des Thrombins = Agglutinins, von Kalk die Rede sein könnte.

Das in das Plasma geratene bzw. gebildete Thrombin (Agglutinin) wird von den (langgestreckten ?) Fibrinogenamikronen adsorbiert, indem es den Fibrinogenamikronen klebrige Eigenschaften verleiht. *Fibrinogen + (adsorbiertes) Agglutinin = Fibrin.* — Die mit Agglutinin beladenen Fibrinogenamikronen (Fibrinamikronen also) treten miteinander in Kontakt infolge ihrer Klebrigkeit, während dabei infolge einer besonderen Eigenschaft der (langgestreckten ?) Amikronen die Neigung zur Anordnung bzw. Organisation in Längsrichtung sich stark geltend macht.

Treten die mit Agglutinin beladenen Fibrinogenamikronen in noch hydratiertem Zustande miteinander zusammen, so bilden sich kürzere und längere Ketten, die, weil ihre optischen Eigenschaften denen der umgebenden Flüssigkeit annähernd gleich sind, in dem mikroskopischen Präparat (Dunkelfelduntersuchung) nicht, oder höchstens in der Gestalt eines Nebels, wahrnehmbar sind. Findet nachher (also sekundär) eine Dehydratation von den die Ketten zusammenstellenden Amikronen statt, so erscheinen die Gebilde plötzlich im Gesichtsfelde. Und zwar die sehr kurzen in der Form von ultramikroskopisch feinen, schlankspindelförmigen Teilchen, die etwas größeren in der Gestalt von kristallähnlichen Nädelchen, die sehr großen in der Form von bisweilen sehr langen Fädchen. Wenn die Hydratation der Amikronen im Verlaufe einer Kette nicht an allen Stellen zu gleicher Zeit vor sich geht, liegt optisch einer der Fälle des „Wachsens" der Nädelchen und Fädchen vor.

Falls umgekehrt die Dehydratation der Fibrinogenamikronen primär ist, also falls der Agglutination die Dehydratation vorangeht, so wird von den nunmehr dehydratierten Fibrinogenamikronen Thrombin (Agglutinin) adsorbiert, mit der Folge Agglutination der in Längsrichtung sich anordnenden dehydratierten Fibrinamikronen. Es entstehen dabei langgestreckte Teilchen, die, sobald sie ultramikroskopische Dimensionen erreicht haben, sich dem Beobachter als schlankspindelförmige Teilchen bzw. äußerst feine kristallähnliche Nädelchen präsentieren.

Von den Nädelchen, in welcher der zwei genannten Weisen sie auch entstanden sein mögen, wird aufs neue Thrombin = Agglutinin [das bei der natürlichen Blutgerinnung im Übermaße produziert wird, sogar in einem solchem Übermaße, daß einesteils das makroskopische Fibringerinnsel im frisch gebildeten Zustande stark klebrig ist, und anderenteils eine ansehnliche Menge Agglutinin in das Serum[1]) übertritt] aus dem Plasma adsorbiert mit der Folge, daß die sich zuvor ins Amikroskopische abspielenden Prozesse nunmehr fernerhin von den Nädelchen in einer dem bewaffneten Auge zugänglichen Weise fortgesetzt wird. Das gilt sowohl in betreff des „Wachstums" wie des Organisationsvorganges der langgestreckten Teilchen.

Reihen sich an die Nädelchen mit Agglutinin beladene Fibrinogenamikronen, so hat man optisch mit einer zweiten Weise des „Wachsens" zu tun, das übrigens nicht nur bei den Nädelchen, sondern ebenfalls bei den Fädchen stattfinden kann.

Der (ultra-)mikroskopisch wahrnehmbare Organisationsprozeß der Nädelchen kann in zweierlei Weisen vor sich gehen. Herrscht das Bestreben der Nädelchen zur Anordnung in Längsrichtung vor, so geht eine Organisation der Nädelchen in Längsrichtung vor sich. Und zwar in der Weise, daß die Nädelchen sich dabei infolge ihrer Klebrigkeit innig aneinanderschließen unter Bildung von größeren Nädelchen oder — und das ist gewöhnlich der Fall — von richtigen Fädchen. Dem ausgebildeten Fibringerinnsel liegt in diesem Falle ein Gewebe von Fädchen zugrunde. Diese Art der Gelbildung beobachtet man vorwiegend in kalkfreien, bzw. an reagierbarem Kalk armen, Gerinnungsflüssigkeiten.

Ist dementgegen die Kraft der Agglutininwirkung eine stärkere wie die Neigung der Nädelchen zur Anordnung in Längsrichtung, so werden die Nädelchen in einer unregelmäßigen Weise agglutiniert unter Bildung von mikroskopisch feinen Schwärmen bzw. Flöckchen, welcher Vorgang morphologisch einem bazillären Agglutinationsprozeß ähnlich ist. Die ebenfalls klebrigen Schwärme bzw. Flöckchen verkleben fernerhin mit anderen dergleichen Schwärmen, während außerdem weitere klebrige Nädelchen an den Schwärmen haften.

Im letzteren Falle, der namentlich zur Beobachtung gelangt in solchen Gerinnungsflüssigkeiten, die reagierbaren Kalk enthalten, ist das entgültige Gel vorwiegend zusammengesetzt aus Milliarden von submikroskopischen, fest verklebten, verfilzten Nädelchen, so daß man, sollte man die Entwicklungsgeschichte des Gerinnsels nicht kennen, den Eindruck bekommen kann, daß das Gel strukturlos, homogen sei,

[1]) Die Formel: Serum = Plasma — Fibrin (bzw. Fibrinogen) ist denn auch schon deshalb nicht mit der Wirklichkeit im Einklang.

während man nichtsdestoweniger mit einer Ultramikrostruktur zu tun hat. Es muß selbstredend der Eindruck von scheinbarer Strukturlosigkeit eines Fibringels in noch erhöhtem Maße aufkommen, wenn das Stadium von submikroskopischen Nädelchen sogar nicht erreicht wird, weil die Kraft der Agglutinationswirkung der Neigung der Amikrone zur Längsanordnung dermaßen überlegen ist, daß letztere schon im noch amikroskopischen Zustande in einer unregelmäßigen Weise unter Schwarmbildung agglutiniert werden.

Übrigens können die verschiedenen Bildungsarten auch nebeneinander in einer und derselben Flüssigkeit stattfinden.

Sowohl bei dem „Wachsen" wie bei der Organisation der Nädelchen zu Fädchen werden anhaftende Flüssigkeitsspuren *in* den Fädchen eingeschlossen, und das trifft in noch stärkerem Maße zu im Hinblick auf die aus submikroskopischen Nädelchen (oder amikroskopischen langgestreckten Teilchen) zusammengesetzten Schwärme. Dementsprechend ist das Fibringerinnsel denn auch tatsächlich nicht einfach zusammengesetzt aus Fibrinogen + Agglutinin, sondern sind in den, dem endgültigen Gel zugrunde liegenden, Fädchen und (oder) Schwärmen zugleich Spuren von (anderen) organischen und anorganischen Plasma- bzw. Serumbestandteilen enthalten.

Dem Umstande, daß einesteils die Fibrinogen- und Fibrinamikronen in den Nädelchen und Fädchen, und ihrerseits die Nädelchen in den Fädchen und Schwärmen, von einer (plastischen) Klebesubstanz (Thrombin, Agglutinin) aneinander gekittet sind, und daß anderenteils die Nädelchen und Fädchen im frisch gebildeten Zustande noch intramicellares Hydratationswasser und außerdem extramicellare Flüssigkeit enthalten, verdankt das Fibringel seine Geschmeidigkeit, Elastizität und Kontraktilität. Letztere Eigenschaft wird um so stärker hervortreten, je nachdem die an dem Aufbau der Nädelchen und Fädchen sich beteiligende Menge des Thrombins (Agglutinin) eine größere ist.

Bei dem vollständigen Verlust des Hydratations- bzw. Quellungswassers und der sekundär eingeschlossenen Flüssigkeit, infolge des völligen Eintrocknenlassens des Gels an der Luft, verliert das Gel die Eigenschaften der Geschmeidigkeit, Elastizität und Kontraktilität: das Gel wird spröde, hart, vollständig fest. Jene Eigenschaften kehren in schwachem Grade zurück beim Übertragen des festen Gels in Wasser, und in erheblich stärkerem Grade beim Übertragen des festen Gels in H'- oder OH'-Ionen enthaltendes Wasser, letzteres allerdings bei einer bestimmten Versuchsanordnung.

Alle diejenigen Mittel, die die Blutplättchen (und Leucocyten) zu konservieren imstande sind, und (oder) der Thrombinbildung entgegenwirken, und (oder) eine derartige Zustandsänderung oder andere Abänderung des Thrombins herbeizuschaffen vermögen, daß die Klebe-

kraft des Thrombins nicht zur Äußerung kommen kann („Antithrombine“ = „Antiagglutinine“) wirken gerinnungswidrig, sowie auch alle diejenigen Mittel, die die Solvation des Fibrinogens zu fördern imstande sind. In dieser Richtung wäre die Erklärung zu suchen von der Tatsache, daß blutplättchenhaltiges Plasma sowie Blut flüssig bleibt, solange die Blutplättchen von physischen Faktoren (Schützung gegen Berührung mit rauhen, nicht glatten Gegenständen und gegen Feuchtigkeitsverlust), vor Läsion oder Zerfall behütet werden, sowie auch von der „antikoagulierenden“ Wirkung von Substanzen, wie das Hirudin, von neutralen Salzen der Alkali- und Erdalkalimetalle in gewissen Konzentrationen und von Alkali und Säure in gewissen Konzentrationen.

Von allen denjenigen Mitteln, die imstande sind, die Grundkomponente (Fibrinogen + Agglutinin) des Fibringels zu solvieren, ohne die Eigenschaften dieser hydrophilen Kolloide irreversibel zu ändern, also ohne diese Stoffe zu denaturieren, kann das Fibringel in den Solzustand zurückversetzt werden. Das ist z. B. der Fall mit schwachem Alkali bzw. schwacher Säure, jedoch unter der Bedingung, daß das Solvens nahezu vollständig von dem Gel inhibiert wird, bis am Ende (bisweilen erst nach 8 bis 14 Tagen) Verflüssigung stattfindet. Läßt man diese Vorkehrung außer Betracht, also ist die verwendete Flüssigkeitsmenge oder gar die $H^{\cdot}$- oder $OH'$-Ionenkonzentration des Solvens zu groß, so wird Denaturierung bzw. Zerlegung der Kolloide herbeigeführt. Bei der Verflüssigung bzw. Solbildung handelt es sich um eine Zustandsänderung, eine Hydratation der hydrophilen Kolloide Fibrinogen und Agglutinin, unter Erhöhung des Dispersitätsgrades, unter dem Einfluß eines Elektrolyten.

Infolge des Umstandes, daß in einem lege artis hergestellten künstlichen Fibrinsol die Komponente („Fibringeneratoren“) Fibrinogen und Agglutinin vorhanden sind, und zwar im hydratierten, gequollenen Zustande, kann in solchen Solen von allen denjenigen Mitteln aufs neue die Bildung von Nädelchen und (oder) Fädchen, bzw. Gelbildung, hervorgerufen werden, die entweder den, die Hydratation vermittelnden, Elektrolyten außer Wirkung zu stellen imstande sind (Neutralisation; der elektrische Strom; Wasser im großen Übermaße), so daß die Kolloidteilchen (sekundär) ihr Hydratations- bzw. Quellungswasser verlieren, oder den Kolloidteilchen primär das Hydratations- bzw. Quellungswasser zu entziehen vermögen (starke Salzlösungen; Verdampfung; Erwärmung auf eine gewisse Temperatur), und ebenfalls von solchen Agenzien, die eine erhebliche Menge Agglutinin enthalten (Blutserum z. B.).

Von dem Gesichtspunkte aus, daß es sich bei dem Thrombin um ein Agglutinin handele, dürfte zugleich die historische Beziehung

zwischen der Entwicklung des Blutgerinnungsproblems einerseits und der der Serologie und Immunitätslehre andererseits in einem neuen Lichte erscheinen.

## Zusammenfassung.

*Bei der der natürlichen Blutgerinnung zugrunde liegenden Fibrinbildung handelt es sich um eine unter dem Scheinbilde eines Kristallisationsprozesses verlaufende Dehydratation + Agglutination von Fibrinogenamikronen. Das Thrombin wäre kein (Fibrin-) Ferment, sondern ein Agglutinin. Fibrinogen + Agglutinin = Fibrin.*

---

# Harnstoff als Eiweißersatz beim milchgebenden Wiederkäuer.

Von

**F. Honcamp, St. Koudela und E. Müller.**

(Aus der agrikulturchemischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation Rostock in Mecklenburg.)

*(Eingegangen am 30. September 1923.)*

Versuche von *W. Völtz*[1]), *A. Morgen*[2]), sowie von *F. Honcamp* und *E. Schneller*[3]) haben gezeigt, daß der Harnstoff unter bestimmten Bedingungen als stickstoffhaltige Nährstoffquelle für den Wiederkäuer in einem gewissen Umfange in Betracht kommt. Zu einer gegenteiligen Ansicht ist bislang auf Grund eigener experimenteller Untersuchungen nur *A. Scheunert*[4]) gelangt. Bei dem starken Mangel an Futtereiweiß in der landwirtschaftlichen Nutzviehhaltung im allgemeinen und der großen Bedeutung des Eiweißes für die Milchsekretion im besonderen schien daher eine Prüfung der Frage von besonderer Wichtigkeit, ob nämlich der Harnstoff auch als Eiweißersatz für die Milchleistung in Betracht kommt. Die von *J. Hansen*[5]) sowohl als auch von *A. Richardsen*[6]) durchgeführten praktischen Fütterungsversuche mit Harnstoff an Milchkühen weisen ganz eindeutig auf diese Möglichkeit hin. In beiden Versuchsreihen konnte einwandfrei der Nachweis erbracht werden, daß Harnstoff, einem sehr eiweißarmen, aber an Stärkewert ausreichenden Futter zugelegt, eine Erhöhung der Milch- und Fettmenge bewirkte. Zu den gleichen Ergebnissen kamen auch *F. Honcamp* und Mitarbeiter[7]). Die Frage, ob Harnstoff und Kohlehydrate für die Milchbildung verwendet werden können, ist dann durch exakte Stoffwechselversuche von *A. Morgen*[8]) an Milchschafen und Ziegen, sowie von *W. Völtz*[9]) an Milchkühen untersucht worden. *A. Morgen* konnte auf Grund seiner Untersuchungen nachweisen, daß ein teilweiser Ersatz des Eiweißes durch Harnstoff ohne Schädigung der Milchproduktion möglich ist. In Übereinstimmung hiermit ergaben auch die *Völtz*schen Harnstoffversuche an Milchvieh, daß dieses Amid die Rolle des Nahrungs-

1) Diese Zeitschr. **102**, 151, 1920.
2) Die landw. Versuchsstat. **99**, 1, 1921.
3) Diese Zeitschr. **138**, 461, 1923.
4) Ebendaselbst **133**, 137, 1922.
5) Landw. Jahrb. **57**, 141, 1922.
6) Nach einem Sonderabdruck.
7) Noch nicht veröffentlicht.
8) Die landw. Versuchsstat. **99**, 1, 359, 1922.
9) Diese Zeitschr. **130**, 323, 1922.

eiweißes bei der Milchsekretion von Wiederkäuern in einem gewissen Umfange zu übernehmen vermag. Unsere eigenen, sich in gleicher oder ähnlicher Richtung bewegenden Untersuchungen mit Milchkühen, über welche im nachstehenden berichtet werden soll, haben wir, unabhängig hiervon, bereits im Jahre 1921 begonnen. Wir haben drei Versuchsreihen mit sechs verschiedenen Kühen durchgeführt. Auf die Versuchsanstellung im besonderen kommen wir bei Besprechung der Einzelversuche zurück.

**Erste Versuchsreihe.**

Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen kommt ein Eiweißersatz durch Amide beim Wiederkäuer nur dann in Frage, wenn diese stickstoffhaltigen Verbindungen nichteiweißartiger Natur einem eiweißarmen, an leicht verdaulichen Kohlehydraten aber reichem Futter zugelegt werden. Die Versuchsergebnisse von *W. Völtz* sowie von *F. Honcamp* und *E. Schneller* bestätigen dieses auch in bezug auf den Harnstoff. Ebenso läßt eine Versuchsreihe von *J. Hansen*, in welcher Harnstoff einer nur aus Heu und Trockenschnitzel, also einer vorwiegend cellulosehaltigen Futterration zugelegt wurde, eine vorteilhafte Wirkung dieses Amides trotz des eiweißarmen Grundfutters auf die Milchergiebigkeit in keiner Weise erkennen. Deshalb sollte zunächst festgestellt werden, wie eine Zulage von Harnstoff auf Stickstoffumsatz und Milchproduktion wirkt, wenn eine in der Hauptsache nur aus Rauhfutter bestehende Ration verabfolgt wird. Die Versuchskuh E wog zu Beginn des Versuches rund 450 kg und gab damals noch etwas über 4 kg Milch pro Tag. Die Futterration bestand aus: 3,5 kg Wiesenheu, 2,0 kg Haferstroh, 1,5 kg Trockenschnitzel und 1,5 kg Roggenkleie. Da es sich bei letzterer um eine sehr scharf ausgemahlene Kleie handelte, so bestand von vornherein die Gewißheit, daß hiermit größere Mengen leicht verdaulicher Kohlehydrate nicht zugeführt wurden. Außerdem erhielt das Versuchstier täglich an Salzen: 50 g $NaCl$, 50 g $CaCO_3$, 25 g $CaHPO_4$ und 10 g $K_2SO_4$. In der ersten Periode wurden pro Tag noch 90 g Harnstoff, und zwar jedesmal genau 30 g zu jeder Mahlzeit, der Kleie und den Salzen beigemischt. In der zweiten Periode fiel der Harnstoff weg.

Die verabfolgten Futterstoffe enthielten in der wasserfreien Substanz:

| | Heu Proz. | Stroh Proz. | Trockenschnitzel Proz. | Roggenkleie Proz. |
|---|---|---|---|---|
| Organische Substanz | 89,69 | 94,33 | 95,52 | 94,68 |
| Rohprotein | 12,53 | 3,49 | 9,51 | 14,23 |
| Gesamt-N | 2,00 | 0,55 | 1,52 | 2,27 |
| Reineiweiß | 11,38 | 3,36 | 8,37 | 13,03 |
| Eiweiß-N | 1,82 | 0,53 | 1,34 | 2,08 |
| Amide | 1,15 | 0,13 | 1,14 | 1,20 |
| Amid-N | 0,18 | 0,02 | 0,18 | 0,19 |
| N-freie Extraktstoffe | 44,01 | 44,24 | 69,43 | 67,65 |
| Rohfett (Ätherextrakt) | 2,29 | 0,67 | 0,48 | 3,29 |
| Rohfaser | 30,86 | 45,93 | 16,10 | 9,51 |
| Reinasche C- u. $CO_2$-frei | 10,31 | 5,67 | 4,48 | 5,32 |
| Verdauliches Eiweiß | 5,37 | 0,81 | 4,28 | 9,90 |
| Stärkewert | 34,57 | 18,33 | 61,24 | 61,47 |

Auf 1000 kg Lebendgewicht berechnet, erhielt die Versuchskuh demnach mit obiger Futterration 15,13 kg Trockensubstanz, 0,758 kg verdauliches Eiweiß und 6,224 kg Stärkewert. Die *Kellner*schen Normen verlangen bei 5 kg Milch auf 500 kg Lebendgewicht eine Futterration, die, gleichfalls auf 1000 kg Lebendgewicht bezogen, 22 kg Trockensubstanz, 1,2 kg verdauliches Eiweiß und 8,0 kg Stärkewert enthält. Die von uns gewählte Futterration entsprach also nicht ganz den üblichen Nährstoffnormen. Wir haben aber absichtlich diese knappe Ration gewählt, einmal um das Tier zum restlosen Verzehr des Futters zu zwingen, zweitens mußten wir, wenn wir eine etwaige Wirkung des Harnstoffs als N-Quelle zum Ausdruck bringen wollten, von vornherein eiweißarm füttern, und drittens läßt sich, wie im vorliegenden Falle, mit Rauhfutter allein der nach den Normen geforderte Stärkewert höchstens dann erreichen, wenn man sehr gutes Wiesen- oder Kleeheu verfüttert. In letzterem Falle hätte dann aber auch wieder die Gefahr einer zu großen Eiweißzufuhr bestanden.

Was zunächst die an den einzelnen Versuchstagen ermolkene Milch- und Milchfettmenge anbetrifft, so gibt hierüber die nachstehende Tabelle Aufschluß.

| Datum 1923 | Morgenmilch | | | Abendmilch | | | Tagesmilch | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Spez. Gewicht bei 15° | Trockensubstanzgehalt Proz. | Trockensubstanzmenge g |
| **1. Periode.** | | | | | | | | | | | | |
| 3. II. | 2,64 | 2,40 | 63,36 | 1,63 | 3,20 | 52,16 | 4,27 | 2,70 | 115,52 | 1,0260 | 10,013 | 427,55 |
| 4. „ | 2,72 | 2,45 | 66,64 | 1,62 | 2,80 | 45,36 | 4,34 | 2,58 | 112,00 | 1,0265 | 9,974 | 432,84 |
| 5. „ | 2,50 | 2,50 | 62,50 | 1,80 | 2,90 | 52,20 | 4,30 | 2,66 | 114,70 | 1,0265 | 10,070 | 433,01 |
| 6. „ | 2,56 | 2,38 | 60,93 | 1,61 | 2,65 | 42,66 | 4,17 | 2,48 | 103,59 | 1,0266 | 9,907 | 413,12 |
| 7. „ | 2,50 | 2,45 | 61,25 | 1,65 | 2,80 | 46,20 | 4,15 | 2,59 | 107,45 | 1,0263 | 9,962 | 413,42 |
| 8. „ | 2,71 | 2,37 | 64,22 | 1,54 | 2,70 | 41,58 | 4,25 | 2,49 | 105,80 | 1,0260 | 9,761 | 414,84 |
| 9. „ | 2,70 | 2,40 | 64,80 | 1,72 | 2,65 | 45,58 | 4,42 | 2,49 | 110,38 | 1,0263 | 9,842 | 433,04 |
| 10. „ | 2,86 | 2,40 | 68,64 | 1,80 | 2,50 | 45,00 | 4,66 | 2,44 | 113,64 | 1,0236 | 9,803 | 456,95 |
| Insges. | 21,19 | — | 512,34 | 13,37 | — | 370,74 | 34,56 | — | 881,08 | — | — | — |
| Pro Tag | **2,65** | **2,41** | **64,04** | **1,67** | **2,77** | **46,34** | **4,32** | **2,55** | **110,13** | **1,0263** | **9,914** | **428,18** |
| **2. Periode.** | | | | | | | | | | | | |
| 19. II. | 2,63 | 2,35 | 61,80 | 1,88 | 3,05 | 57,34 | 4,51 | 2,64 | 119,14 | 1,0268 | 10,123 | 456,54 |
| 20. „ | 2,74 | 2,25 | 61,65 | 1,83 | 2,70 | 49,41 | 4,57 | 2,43 | 111,06 | 1,0268 | 9,871 | 451,10 |
| 21. „ | 2,78 | 2,25 | 62,55 | 1,97 | 2,70 | 53,19 | 4,75 | 2,43 | 115,74 | 1,0268 | 9,871 | 468,77 |
| 22. „ | 2,86 | 2,25 | 64,35 | 2,02 | 2,60 | 52,52 | 4,88 | 2,39 | 116,87 | 1,0264 | 9,722 | 474,43 |
| 23. „ | 2,80 | 2,30 | 64,40 | 1,85 | 2,50 | 46,25 | 4,65 | 2,37 | 110,65 | 1,0264 | 9,698 | 450,95 |
| 24. „ | 2,73 | 2,20 | 60,06 | 1,91 | 2,85 | 54,43 | 4,64 | 2,46 | 114,49 | 1,0265 | 9,830 | 456,11 |
| 25. „ | 2,76 | 2,20 | 60,72 | 1,90 | 2,80 | 53,20 | 4,66 | 2,44 | 113,92 | 1,0264 | 9,782 | 455,84 |
| 26. „ | 2,64 | 2,20 | 58,08 | 1,73 | 2,50 | 43,25 | 4,37 | 2,31 | 101,33 | 1,0265 | 9,650 | 421,70 |
| Insges. | 21,94 | — | 493,61 | 15,09 | — | 409,59 | 37,03 | — | 903,20 | — | — | — |
| Pro Tag | **2,74** | **2,25** | **61,70** | **1,88** | **2,72** | **51,20** | **4,62** | **2,44** | **112,90** | **1,0265** | **9,806** | **453,03** |

Wenn wir die Durchschnittswerte der beiden Perioden einander gegenüberstellen, so erhalten wir folgendes Bild:

| | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Trockensubstanzmenge g |
|---|---|---|---|---|
| 1. Periode mit Harnstoff . . | 4,32 | 2,55 | 110,13 | 428,28 |
| 2. Periode ohne Harnstoff . | 4,62 | 2,44 | 112,90 | 453,03 |

Bei einem normalen Verlauf der Laktation bzw. wenn die Harnstoffverfütterung ohne Einfluß auf die Milchsekretion gewesen wäre, hätte in der zweiten Periode weniger Milch ermolken werden müssen als in der ersten Periode. In Wirklichkeit sind aber im Durchschnitt 0,30 kg Milch pro Tag mehr produziert worden. Der prozentische Fettgehalt ist um ein weniges gesunken, die ermolkene Fettmenge fast annähernd die gleiche geblieben. In bezug auf die Trockensubstanzmenge ist eine geringe Zunahme zu verzeichnen. Wollten wir den Einfluß der Harnstoffverfütterung auf die Milchproduktion exakt verfolgen, so würde sich noch eine dritte Periode wieder mit Harnstoffzulage haben anschließen müssen. Wenn wir dies auch nicht getan haben, da es uns in dem vorliegenden Versuche in erster Linie auf die Stickstoffbilanz ankam, so geht doch aus der obigen Gegenüberstellung hervor, daß bei dieser ziemlich eiweißarmen, fast ausschließlich aus Rauhfutter bestehenden Ration ein Einfluß der Harnstoffverfütterung nicht stattgefunden hat. Zum mindesten nicht im günstigen Sinne, eher ist das Gegenteil anzunehmen. Man würde also hieraus schon folgern können, daß Harnstoff einer eiweißarmen, in der Hauptsache aus Rauhfutter zusammengesetzten Ration weder eiweißersparend noch eiweißersetzend wirken kann. Den Beweis hierfür kann aber nur die Stickstoffbilanz erbringen.

Wir lassen nunmehr zunächst die tabellarischen Zusammenstellungen über die tägliche Kot-, Harn- und Milchproduktion nebst dem Gehalt der beiden letzteren an Stickstoff folgen (s. Tabelle auf folgender Seite oben).

Der Gehalt des Kotes an Gesamt-, Eiweiß- und verdaulichem Stickstoff wurde im frischen Mischkot bestimmt. In der Mischmilch wurde gleichfalls nochmals Gesamtprotein, dann auch noch Reineiweiß und Milchzucker bestimmt.

Der Mischkot enthielt, auf Trockensubstanz berechnet:

| | Gesamt-N | Eiweiß-N | Verdaulichen N |
|---|---|---|---|
| 1. Periode mit Harnstoff . . | 1,906 Proz. = 54,34 g | 1,772 Proz. = 50,53 g | 0,563 Proz. = 16,06 g |
| 2. Periode ohne Harnstoff . . | 1,804 „ = 53,47 g | 1,728 „ = 51,21 g | 0,578 „ = 17,14 g |

In der Mischmilch wurden gefunden:

| | Gesamt-N | Eiweiß-N | Milchzucker |
|---|---|---|---|
| 1. Periode mit Harnstoff . . | 0,375 Proz. = 16,20 g | 0,355 Proz. = 15,33 g | 3,71 Proz. = 160,27 g |
| 2. Periode ohne Harnstoff . . | 0,375 „ = 17,32 g | 0,353 „ = 16,30 g | 3,74 „ = 172,78 g |

| Datum | *Kot* | | | *Harn* | | | *Milch* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kotmenge frisch kg | Kottrockensubstanz Proz. | Gesamte Kottrockensubstanzmenge kg | Harnmenge kg | N-Gehalt Proz. | N-Menge g | Milchmenge kg | N-Gehalt Proz. | N-Menge g |
| | | | | 1. Periode. | | | | | |
| 3. II. 1923 | 17,48 | 17,44 | 3,049 | 9,28 | 0,924 | 87,54 | 4,27 | 0,374 | 15,97 |
| 4. „ „ | 16,73 | 17,63 | 2,950 | 8,68 | 1,008 | 87,59 | 4,34 | 0,378 | 16,43 |
| 5. „ „ | 13,71 | 18,17 | 2,492 | 7,11 | 1,080 | 76,79 | 4,30 | 0,379 | 16,31 |
| 6. „ „ | 16,70 | 18,09 | 3,022 | 9,76 | 1,090 | 106,38 | 4,17 | 0,378 | 15,76 |
| 7. „ „ | 15,61 | 17,32 | 2,704 | 8,27 | 1,120 | 92,62 | 4,15 | 0,378 | 15,68 |
| 8. „ „ | 14,79 | 18,15 | 2,685 | 8,39 | 1,030 | 86,41 | 4,25 | 0,375 | 15,93 |
| 9. „ „ | 17,05 | 18,56 | 3,165 | 10,26 | 1,020 | 104,65 | 4,42 | 0,376 | 16,61 |
| 10. „ „ | 15,08 | 18,20 | 2,746 | 7,74 | 1,100 | 85,14 | 5,66 | 0,373 | 17,38 |
| Durchschnitt | **15,89** | **17,94** | **2,851** | **8,69** | **1,04** | **90,89** | **4,32** | **0,376** | **16,25** |
| | | | | 2. Periode. | | | | | |
| 19. II. 1923 | 18,77 | 17,26 | 3,240 | 7,22 | 0,567 | 40,93 | 4,51 | 0,384 | 17,31 |
| 20. „ „ | 17,04 | 17,14 | 2,922 | 6,43 | 0,585 | 37,61 | 4,57 | 0,376 | 17,18 |
| 21. „ „ | 18,02 | 17,27 | 3,113 | 8,91 | 0,592 | 52,74 | 4,75 | 0,376 | 17,86 |
| 22. „ „ | 17,25 | 16,84 | 2,906 | 7,40 | 0,690 | 51,06 | 4,88 | 0,378 | 18,44 |
| 23. „ „ | 17,32 | 16,94 | 2,934 | 6,41 | 0,698 | 42,16 | 4,65 | 0,372 | 17,29 |
| 24. „ „ | 17,90 | 16,50 | 2,954 | 7,52 | 0,605 | 45,49 | 4,64 | 0,376 | 17,44 |
| 25. „ „ | 15,42 | 17,00 | 2,622 | 8,06 | 0,584 | 47,07 | 4,66 | 0,376 | 17,52 |
| 26. „ „ | 17,70 | 17,07 | 3,022 | 7,60 | 0,605 | 45,98 | 4,37 | 0,376 | 16,43 |
| Durchschnitt | **17,42** | **17,01** | **2,964** | **7,44** | **0,595** | **45,48** | **4,62** | **0,377** | **17,43** |

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß im Kote relativ wie absolut der Gehalt an Gesamt-N wie auch an Eiweiß-N in beiden Perioden wenigstens annähernd der gleiche geblieben ist. Nur an verdaulichem Stickstoff wurde in der zweiten Periode ohne Harnstoff im Kote 1,08 g mehr ausgeschieden. In der Milch waren dagegen in der Periode, in welcher kein Harnstoff verfüttert wurde, rund 1 g Gesamt- wie auch Eiweiß-N mehr vorhanden. Auch im Verhältnis von Gesamt- zum Eiweiß-N sind durch die Harnstoffverfütterung wesentliche Veränderungen nicht bedingt worden, denn es waren von 100 Teilen Gesamt-N in Form von Eiweiß-N vorhanden

| | Im Kote | In der Milch |
|---|---|---|
| 1. Periode mit Harnstoff | 92,99 Proz. | 94,63 Proz. |
| 2. „ ohne Harnstoff | 95,77 „ | 94,11 „ |

Es geht hieraus hervor, daß zum mindesten in die Milch kein Stickstoff vom Harnstoff übergegangen sein kann, während beim Kote, wenn tatsächlich mit diesem vom Harnstoff herrührender Stickstoff ausgeschieden sein sollte, die in Frage kommende Menge nur eine sehr geringe gewesen ist.

Eine Gegenüberstellung der Einnahmen und Ausgaben an Stickstoff überhaupt ergibt nun folgendes:

| | 1. Periode g N | 2. Periode g N |
|---|---|---|
| Einnahmen: | | |
| Wiesenheu | 55,02 | 55,02 |
| Haferstroh | 8,18 | 8,18 |
| Trockenschnitzel | 28,05 | 28,05 |
| Roggenkleie | 19,62 | 19,62 |
| Harnstoff | 41,85 | — |
| Insgesamt | 152,72 | 110,87 |
| Ausgaben: | | |
| Kot | 54,34 | 53,47 |
| Harn | 90,89 | 45,48 |
| Milch | 16,25 | 17,43 |
| Insgesamt | 161,48 | 116,38 |
| Ansatz (+) oder Abgabe (—) an N | —8,76 | —5,51 |

Hiernach hat die Versuchskuh in beiden Perioden von ihrer stickstoffhaltigen Körpersubstanz noch zuschießen müssen, und zwar in der Periode mit Harnstoffverfütterung sogar noch 3,25 g N pro Tag mehr als in der zweiten Periode, in welcher der Harnstoff weggelassen wurde. Es war also der Eiweißverbrauch in der Harnstoffperiode gesteigert. Auf Grund dieser Tatsache in Verbindung mit dem weiteren Umstande, daß auch bezüglich der Menge und Zusammensetzung der Milch unter den hier eingehaltenen Versuchsbedingungen die Harnstoffverfütterung eher nachteilig als fördernd gewirkt hat, kann dem Stickstoff des Harnstoffs keinerlei Wert für den tierischen Organismus und die Milchproduktion zugesprochen werden, sofern die Futterration sich in der Hauptsache aus Rauhfuttermitteln zusammensetzt. Die Cellulose als Kohlehydrat kann also nicht im Sinne der Bakterieneiweißtheorie Verwendung finden. Es muß weiterhin angenommen werden, daß der mit dem Harnstoff verfütterte Stickstoff quantitativ durch die Nieren zur Ausscheidung gelangt ist. In der Harnstoffperiode wurden mit dem Harn täglich 90,89 g, in der darauf folgenden Periode ohne Harnstoff durchschnittlich pro Tag 45,48 g, also 45,41 g N weniger ausgeschieden. In der Tagesration von 90 g Harnstoff waren aber 41,85 g N enthalten. Rechnet man hierzu noch die in der Periode mit Harnstoff von der Körpersubstanz mehr herrührenden 3,25 g N, so kommt man auf eine tägliche Stickstoffausscheidung von 45,10 g N gegenüber der tatsächlich ausgeschiedenen Menge von 45,48 g N. Der Stickstoff des Harnstoffs dürfte also quantitativ wieder zur Ausscheidung gekommen sein.

Es soll nun noch weiterhin untersucht werden, ob die Verfütterung von Harnstoff auf die Verdaulichkeit des Gesamtfutters irgendwelchen Einfluß ausgeübt hat.

Die in den beiden Perioden ausgeschiedenen Fäzes enthielten in der wasserfreien Substanz:

| | 1. Periode (mit Harnstoff) Proz. | 2. Periode (ohne Harnstoff) Proz. |
|---|---|---|
| Organische Substanz | 85,29 | 84,36 |
| Rohprotein | 11,91 | 11,28 |
| Reineiweiß | 11,08 | 10,80 |
| N-freie Extraktstoffe | 43,95 | 43,62 |
| Rohfett (Ätherextrakt) | 2,86 | 2,74 |
| Rohfaser | 26,57 | 26,72 |
| Reinasche, C- u. $CO_2$-frei | 14,71 | 15,64 |

Für Rohprotein und Reineiweiß sind die im frischen Mischkote gefundenen Zahlen eingesetzt, da beim Vortrocknen des Kotes immer geringe N-Verluste eintreten. So fanden wir in dem vorgetrockneten Kote einen Gehalt an Rohprotein von 10,59 Proz., also 1,32 Proz. weniger als im frischen Mischkote. Wenn dieser Unterschied auch nur gering ist und eigentlich noch vollkommen innerhalb des zulässigen Analysenfehlers liegt, so hielten wir es doch für richtiger, die im frischen Mischkote gefundenen Zahlen hier einzusetzen.

Die Verdaulichkeit des Grundfutters berechnet sich nun wie folgt:

| | Trockensubstanz kg | Organ. Substanz kg | Rohprotein kg | Reineiweiß kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohfett (Ätherextrakt) kg | Rohfaser kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Einnahmen:** | | | | | | | |
| 3,50 kg Wiesenheu . . . | 2,751 | 2,467 | 0,345 | 0,313 | 1,211 | 0,063 | 0,849 |
| 2,00 „ Haferstroh . . . | 1,489 | 1,405 | 0,052 | 0,050 | 0,659 | 0,010 | 0,684 |
| 1,50 „ Trockenschnitzel . | 1,291 | 1,233 | 0,123 | 0,108 | 0,896 | 0,006 | 0,208 |
| 1,50 „ Roggenkleie . . . | 1,280 | 1,212 | 0,182 | 0,167 | 0,866 | 0,042 | 0,122 |
| Gesamtverzehr . . . . . | 6,811 | 6,317 | 0,702 | 0,638 | 3,632 | 0,121 | 1,863 |
| **Ausgaben:** | | | | | | | |
| Im Kot (1. Periode mit Harnstoff) . . . . . . | 2,851 | 2,432 | 0,340 | 0,316 | 1,253 | 0,082 | 0,758 |
| Im Kot (2. Periode ohne Harnstoff) . . . . . . | 2,964 | 2,500 | 0,334 | 0,320 | 1,293 | 0,081 | 0,792 |

Es wurden demnach verdaut:

| | Trockensubstanz | Organ. Substanz | Rohprotein | Reineiweiß | N-freie Extraktstoffe | Rohfett (Ätherextrakt) | Rohfaser |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Periode (mit Harnstoff).** | | | | | | | |
| In kg . . . . . . . . . | 3,960 | 3,885 | 0,362 | 0,322 | 2,379 | 0,039 | 1,105 |
| In Proz. . . . . . . . . . | **58,1** | **61,5** | **51,6** | **50,5** | **65,5** | **32,2** | **59,3** |
| **2. Periode (ohne Harnstoff).** | | | | | | | |
| In kg . . . . . . . . . | 3,847 | 3,817 | 0,368 | 0,318 | 2,339 | 0,040 | 1,071 |
| In Proz. . . . . . . . . . | **56,5** | **60,4** | **52,4** | **49,8** | **64,4** | **33,1** | **57,5** |

Die Verdauungskoeffizienten beider Perioden zeigen also untereinander eine so gute Übereinstimmung, um hieraus mit Sicherheit folgern zu können, daß die Beifütterung von Harnstoff in keiner Weise die Verdauung des übrigen Futters, und zwar weder im günstigen noch im ungünstigen Sinne beeinflußt hat. Der Harnstoff hat sich demnach unter den hier eingehaltenen Versuchsbedingungen als indifferent erwiesen.

Der vorliegende Versuch hat also ergeben, daß

1. *bei einer fast ausschließlich aus Rauhfutter bestehenden Ration eine Beifütterung von Harnstoff den Eiweißumsatz steigert, der Stickstoff des Harnstoffs daher in keiner Weise eiweißsparend oder gar eiweißersetzend wirkt. Der Stickstoff des Harnstoffs wird vielmehr quantitativ durch die Nieren wieder ausgeschieden;*

2. *der Harnstoff im vorliegenden Falle die Menge und Zusammensetzung der Milch eher ungünstig denn günstig beeinflußt hat. Es kann demgemäß auch nicht einmal von einer Reizwirkung des Harnstoffs auf die Milchsekretion die Rede sein;*

3. *die Verdaulichkeit des gesamten Futters durch Beifütterung von Harnstoff nicht beeinflußt wird.*

## Zweite Versuchsreihe.

Die vorliegende Versuchsreihe verfolgte die Absicht, die Wirkung einer Harnstoffverfütterung auf Menge und Zusammensetzung der Milch sowie die Stickstoffbilanz zu verfolgen, wenn der Harnstoff einem zwar eiweißarmen, aber an leicht löslichen und hoch verdaulichen Kohlehydraten reichen Futter zugelegt wird. Der Versuch wurde zunächst mit den Kühen C und D durchgeführt. Als Grundfutter wurde in allen Perioden gleichmäßig eine Ration verabreicht, welche aus Maisschrot, Kartoffelflocken, Trockenschnitzel, Melasseschnitzel und Haferstroh bestand. Hierzu kam das gleiche Salzgemisch wie im ersten Versuche, außerdem in der ersten und dritten Periode pro Tag und Kuh 150 g Harnstoff mit einem Stickstoffgehalt von 46,33 Proz.

Die verabfolgten Futterstoffe wiesen in der Trockensubstanz folgende prozentische Zusammensetzung auf:

| | Rohprotein | Reineiweiß | N-freie Extraktstoffe | Rohfett (Ätherextrakt) | Rohfaser | Reinasche, C- u. $CO_2$-frei |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Maisschrot . . . . . . | 10,69 | 10,22 | 80,33 | 4,34 | 2,43 | 2,21 |
| Kartoffelflocken . . . . | 7,03 | 4,03 | 87,70 | 0,21 | 1,26 | 3,80 |
| Melasseschnitzel . . . . | 11,11 | 5,74 | 74,24 | 0,17 | 8,42 | 6,06 |
| Trockenschnitzel . . . | 9,65 | 8,16 | 69,24 | 0,30 | 16,08 | 4,00 |
| Haferstroh . . . . . . | 2,40 | 2,19 | 46,65 | 1,76 | 44,87 | 4,32 |

An Stickstoff waren in der wasserfreien Substanz enthalten:

| | Maisschrot | Kartoffelflocken | Melasseschnitzel | Trockenschnitzel | Haferstroh | Harnstoff |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Gesamtstickstoff . . . | 1,70 | 1,12 | 1,77 | 1,54 | 0,38 | 46,33 |
| Eiweißstickstoff . . . . | 1,63 | 0,64 | 0,92 | 1,31 | 0,35 | — |

An Kraftfutter einschließlich Schnitzel erhielten die beiden Versuchskühe pro Tag und Kopf je 2,00 kg Maisschrot und Kartoffelflocken, 1,50 kg Melasseschnitzel und 0,50 kg Trockenschnitzel, außerdem Kuh C 2,75 und Kuh D 4,00 kg Haferstrohhäcksel. Diese Futterrationen enthielten 7,44 bzw. 8,49 kg Trockensubstanz, 0,184 bzw. 0,191 kg verdauliches Eiweiß und 4,562 bzw. 4,788 kg Stärkewert.

Das durchschnittliche Lebendgewicht der Kühe war in den einzelnen Versuchsabschnitten:

| | Kuh C | Kuh D |
|---|---|---|
| 1. Periode (mit Harnstoff) . . . . | 376,5 kg | 429,1 kg |
| 2. „ (ohne „ ) . . . . | 385,3 „ | 440,3 „ |
| 3. „ (mit „ ) . . . . | 383,1 „ | 432,1 „ |
| Im Mittel aller drei Perioden . . | 381,6 kg | 433,9 kg |

Auf 1000 kg Lebendgewicht berechnet, enthielten demnach die obigen Futterrationen ohne Berücksichtigung des Harnstoffs:

| | Verdauliches Eiweiß | Stärkewert |
|---|---|---|
| Kuh C . . . . . . . . . . . . | 0,482 kg | 11,95 kg |
| Kuh D . . . . . . . . . . . . | 0,440 „ | 11,04 „ |

In bezug auf den Stärkewert waren beide Futterrationen als reichlich zu bezeichnen, dagegen war der Gehalt an verdaulichem Eiweiß gegenüber den üblichen Futternormen um rund 50 Proz. zu niedrig.

Was nun den eigentlichen Versuch anbetrifft, so zerfällt dieser in drei Perioden, von denen jede 16 Tage dauerte. Hiervon entfielen je 8 Tage auf die Vorfütterung und den eigentlichen engeren Versuchsabschnitt, in welch letzterem Kot, Harn und Milch quantitativ bestimmt und untersucht wurden. Ein allmählicher Übergang zur Harnstofffütterung bzw. ein allmähliches Kürzen der Harnstoffgaben hat nicht stattgefunden. Das vorgelegte Futter wurde stets restlos aufgezehrt. In der Periode ohne Harnstoff fraßen die Tiere jedoch weniger gut und gierig. Es muß demnach angenommen werden, daß der Harnstoff direkt appetitanregend gewirkt hat. Gemolken wurde täglich zweimal und in jedem Gemelk der Fettgehalt bestimmt. Wir beschränken uns jedoch hier auf die Wiedergabe des Fettgehaltes von der ganzen Tagesmilch. Im Gesamtgemelke sind auch die Bestimmungen des spezifischen Gewichtes, des Stickstoffgehaltes usw. ausgeführt worden. Die Milchtrockensubstanz ist nach der *Fleischmann*schen Formel $t = 1{,}2f + 266{,}5\,\frac{100{,}5 - 100}{s}$ berechnet worden, wobei unter $t$ die Trockensubstanz, $f$ der Fettgehalt und $s$ das spezifische Gewicht der Milch zu verstehen ist.

Wir lassen nun zunächst die Milchtabellen folgen (s. die Tabellen auf nächster und nächstfolgender Seite).

Hieraus ergeben sich für die einzelnen Perioden folgende täglichen Durchschnittserträge:

| | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Trockensubstanz kg | Fettfreie Trockensubstanz kg |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Kuh C. | | |
| 1. Periode (Harnstoff) | 9,780 | 3,35 | 327,42 | 1,186 | 0,858 |
| 2. „ . . . . . . . | 6,673 | 3,35 | 222,96 | 0,797 | 0,574 |
| 3. Periode (Harnstoff) | 7,376 | 3,42 | 252,65 | 0,890 | 0,649 |
| | | | Kuh D. | | |
| 1. Periode (Harnstoff) | 11,736 | 2,76 | 325,13 | 1,307 | 0,982 |
| 2. „ . . . . . . | 8,066 | 2,60 | 209,38 | 0,874 | 0,665 |
| 3. „ (Harnstoff) | 10,316 | 2,98 | 307,93 | 1,180 | 0,872 |

Ohne daß man zunächst überhaupt die fallende Laktation berücksichtigt, geht schon aus der Betrachtung dieser absoluten Zahlen hervor, daß das Weglassen des Harnstoffs ungünstig auf den Ertrag und die Bestandteile der Milch eingewirkt hat. Denn sobald in der dritten Periode der Harnstoff wieder zugelegt wurde, nahm die Menge der Milch und der Gehalt derselben ohne weiteres wieder zu. Dieser günstige Einfluß der Harnstoff-

| Datum | Lebend-gewicht | Milch-menge | Spez. Gew. bei 15° C | Fett | | Trocken-substanz | | Fettfreie Trocken-substanz | | Stickstoff | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | kg | kg | | Proz. | g | Proz. | kg | Proz. | kg | Proz. | g |
| **Kuh C. 1. Periode. Grundfutter + 150 g Harnstoff.** | | | | | | | | | | | |
| 24. VIII. 1922 | 380,0 | 9,90 | 1,0311 | 3,43 | 339,11 | 12,16 | 1,204 | 8,74 | 0,865 | 0,48 | 47,62 |
| 25. „ „ | 380,0 | 9,66 | 1,0310 | 3,37 | 325,57 | 12,05 | 1,164 | 8,68 | 0,838 | 0,48 | 46,56 |
| 26. „ „ | 375,0 | 9,92 | 1,0316 | 3,49 | 346,59 | 12,35 | 1,225 | 8,86 | 0,878 | 0,48 | 47,32 |
| 27. „ „ | 375,0 | 9,41 | 1,0316 | 3,45 | 324,44 | 12,30 | 1,157 | 8,85 | 0,833 | 0,48 | 45,54 |
| 28. „ „ | 380,0 | 9,30 | 1,3016 | 3,24 | 301,47 | 12,05 | 1,121 | 8,71 | 0,819 | 0,48 | 44,73 |
| 29. „ „ | 375,0 | 9,72 | 1,3014 | 3,24 | 315,12 | 12,00 | 1,166 | 8,76 | 0,851 | 0,47 | 45,98 |
| 30. „ „ | 375,0 | 9,63 | 1,3014 | 3,36 | 323,73 | 12,14 | 1,169 | 8,78 | 0,845 | 0,48 | 46,22 |
| 31. „ „ | 372,5 | 10,70 | 1,3014 | 3,21 | 343,29 | 11,96 | 1,280 | 8,75 | 0,937 | 0,48 | 51,25 |
| In Summa: | — | 78,240 | — | — | 2619,32 | — | 9,486 | — | 6,866 | — | 375,22 |
| Also im Mittel der 8 Tage: | **376,5** | **9,780** | **1,0314** | **3,35** | **327,42** | **12,13** | **1,186** | **8,77** | **0,858** | **0,48** | **46,90** |
| **Kuh C. 2. Periode. Grundfutter ohne Harnstoff.** | | | | | | | | | | | |
| 9. IX. 1922 | 385,0 | 7,00 | 1,0350 | 3,47 | 242,65 | 12,05 | 0,843 | 8,58 | 0,600 | 0,45 | 31,50 |
| 10. „ „ | 377,5 | 7,80 | 1,0311 | 3,10 | 241,56 | 11,76 | 0,917 | 8,66 | 0,675 | 0,46 | 35,57 |
| 11. „ „ | 385,0 | 6,61 | 1,0309 | 3,28 | 216,52 | 11,93 | 0,789 | 8,65 | 0,572 | 0,46 | 30,60 |
| 12. „ „ | 380,0 | 6,48 | 1,0308 | 3,32 | 214,97 | 11,95 | 0,774 | 8,63 | 0,559 | 0,46 | 30,07 |
| 13. „ „ | 380,0 | 6,17 | 1,0312 | 2,98 | 183,70 | 11,64 | 0,718 | 8,66 | 0,534 | 0,47 | 28,88 |
| 14. „ „ | 385,0 | 6,38 | 1,0308 | 3,28 | 209,34 | 11,90 | 0,759 | 8,62 | 0,550 | 0,46 | 29,41 |
| 15. „ „ | 385,0 | 6,37 | 1,0300 | 3,63 | 231,07 | 12,12 | 0,772 | 8,49 | 0,541 | 0,45 | 28,66 |
| 16. „ „ | 385,0 | 6,57 | 1,0301 | 3,71 | 243,92 | 12,24 | 0,804 | 8,53 | 0,560 | 0,45 | 29,50 |
| In Summa: | — | 55,380 | — | — | 1675,05 | — | 6,376 | — | 4,591 | — | 244,19 |
| Also im Mittel der 8 Tage: | **385,8** | **6,678** | **1,0307** | **3,35** | **222,96** | **11,95** | **0,797** | **8,60** | **0,574** | **0,46** | **30,53** |
| **Kuh C. 3. Periode. Grundfutter + 150 g Harnstoff.** | | | | | | | | | | | |
| 25. IX. 1922 | 382,5 | 7,44 | 1,0299 | 3,79 | 281,63 | 12,28 | 0,914 | 8,49 | 0,632 | 0,48 | 35,94 |
| 26. „ „ | 380,0 | 7,97 | 1,0314 | 3,04 | 242,38 | 11,76 | 0,937 | 8,72 | 0,695 | 0,49 | 38,65 |
| 27. „ „ | 380,0 | 7,70 | 1,0317 | 2,94 | 226,36 | 11,71 | 0,902 | 8,77 | 0,676 | 0,49 | 37,42 |
| 28. „ „ | 382,5 | 7,38 | 1,0315 | 2,92 | 215,54 | 11,64 | 0,859 | 8,72 | 0,643 | 0,50 | 36,83 |
| 29. „ „ | 380,0 | 7,28 | 1,0303 | 3,75 | 273,29 | 12,34 | 0,898 | 8,59 | 0,625 | 0,49 | 35,67 |
| 30. „ „ | 385,0 | 7,57 | 1,0296 | 4,00 | 302,97 | 12,46 | 0,943 | 8,46 | 0,640 | 0,48 | 36,03 |
| 1. X. „ | 385,0 | 7,40 | 1,0309 | 3,88 | 286,84 | 12,65 | 0,936 | 8,77 | 0,648 | 0,48 | 35,74 |
| 2. „ „ | 390,0 | 6,27 | 1,0309 | 3,08 | 193,22 | 11,68 | 0,732 | 8,60 | 0,633 | 0,49 | 30,91 |
| In Summa: | — | 59,010 | — | — | | — | 7,121 | — | 5,192 | — | |
| Also im Mittel der 8 Tage: | **383,1** | **7,876** | **1,0308** | **3,42** | **252,65** | **12,07** | **0,890** | **8,64** | **0,649** | **0,49** | **35,90** |
| **Kuh D. 1. Periode. Grundfutter + 150 g Harnstoff.** | | | | | | | | | | | |
| 24. VIII. 1922 | 417,5 | 11,26 | 1,0313 | 2,91 | 327,56 | 11,58 | 1,304 | 8,67 | 0,976 | 0,44 | 49,54 |
| 25. „ „ | 425,0 | 11,71 | 1,0305 | 2,90 | 339,44 | 11,37 | 1,331 | 8,47 | 0,992 | 0,43 | 50,82 |
| 26. „ „ | 427,5 | 11,67 | 1,0301 | 2,86 | 333,78 | 11,22 | 1,309 | 8,36 | 0,975 | 0,44 | 50,88 |
| 27. „ „ | 427,5 | 11,78 | 1,0301 | 2,89 | 340,58 | 11,26 | 1,326 | 8,37 | 0,985 | 0,43 | 51,03 |
| 28. „ „ | 430,0 | 11,93 | 1,0301 | 2,75 | 328,64 | 11,09 | 1,323 | 8,34 | 0,994 | 0,44 | 52,37 |
| 29. „ „ | 435,0 | 11,49 | 1,0301 | 2,66 | 305,12 | 10,98 | 1,262 | 8,32 | 0,957 | 0,43 | 49,75 |
| 30. „ „ | 435,0 | 12,30 | 1,0302 | 2,61 | 320,97 | 10,94 | 1,346 | 8,33 | 1,025 | 0,44 | 54,00 |
| 31. „ „ | 437,5 | 11,75 | 1,0297 | 2,50 | 304,98 | 10,69 | 1,256 | 8,19 | 0,951 | 0,43 | 50,41 |
| In Summa: | — | 93,89 | — | — | 2601,07 | — | 10,453 | — | 7,885 | — | 408,87 |
| Also im Mittel der 8 Tage: | **429,4** | **11,736** | **1,0303** | **2,76** | **325,13** | **11,14** | **1,307** | **8,38** | **0,982** | **0,44** | **51,11** |

| Datum | Lebendgewicht | Milchmenge | Spez. Gew. bei 15° C | Fett | | Trockensubstanz | | Fettfreie Trockensubstanz | | Stickstoff | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | kg | kg | | Proz. | g | Proz. | g | Proz. | kg | Proz. | g |
| Kuh D. 2. Periode. Grundfutter ohne Harnstoff. | | | | | | | | | | | |
| 9. IX. 1922 | 445,0 | 8,99 | 1,0302 | 2,54 | 228,17 | 10,86 | 0,973 | 8,32 | 0,745 | 0,42 | 38,12 |
| 10. „ „ | 445,0 | 7,15 | 1,0299 | 2,57 | 183,70 | 10,82 | 0,774 | 8,25 | 0,590 | 0,42 | 30,03 |
| 11. „ „ | 445,0 | 8,27 | 1,0296 | 2,59 | 214,28 | 10,77 | 0,891 | 8,18 | 0,677 | 0,43 | 35,48 |
| 12. „ „ | 440,0 | 7,80 | 1,0296 | 2,58 | 200,86 | 10,76 | 0,839 | 8,18 | 0,638 | 0,42 | 32,84 |
| 13. „ „ | 437,5 | 8,29 | 1,0299 | 2,60 | 215,80 | 10,86 | 0,900 | 8,26 | 0,684 | 0,42 | 34,57 |
| 14. „ „ | 435,0 | 8,06 | 1,0295 | 2,69 | 217,18 | 10,86 | 0,875 | 8,17 | 0,657 | 0,42 | 33,85 |
| 15. „ „ | 435,0 | 7,68 | 1,0300 | 2,59 | 199,17 | 10,87 | 0,835 | 8,28 | 0,636 | 0,43 | 33,02 |
| 16. „ „ | 440,0 | 8,29 | 1,0302 | 2,60 | 215,89 | 10,93 | 0,906 | 8,33 | 0,690 | 0,44 | 36,64 |
| In Summa: | — | 64,53 | — | — | 1675,05 | — | 6,993 | — | 5,317 | — | 274,05 |
| Also im Mittel der 8 Tage: | **440,3** | **8,066** | **1,0299** | **2,60** | **209,38** | **10,84** | **0,874** | **8,25** | **0,665** | **0,43** | **34,26** |
| Kuh D. 3. Periode. Grundfutter + 150 g Harnstoff. | | | | | | | | | | | |
| 25. IX. 1922 | 432,5 | 10,63 | 1,0306 | 2,80 | 297,73 | 11,27 | 1,198 | 8,47 | 0,900 | 0,48 | 50,71 |
| 26. „ „ | 430,0 | 10,60 | 1,0302 | 3,27 | 346,60 | 11,74 | 1,244 | 8,47 | 0,897 | 0,47 | 50,14 |
| 27. „ „ | 432,5 | 10,32 | 1,0300 | 3,23 | 333,22 | 11,64 | 1,201 | 8,41 | 0,868 | 0,47 | 47,99 |
| 28. „ „ | 430,0 | 10,13 | 1,0307 | 2,96 | 300,01 | 11,49 | 1,162 | 8,53 | 0,862 | 0,47 | 47,91 |
| 29. „ „ | 432,5 | 10,42 | 1,0302 | 2,79 | 290,55 | 11,16 | 1,163 | 8,37 | 0,872 | 0,46 | 48,24 |
| 30. „ „ | 435,0 | 10,30 | 1,0307 | 2,85 | 293,88 | 11,36 | 1,170 | 8,51 | 0,876 | 0,47 | 48,82 |
| 1. X. „ | 432,5 | 10,60 | 1,0307 | 3,07 | 322,08 | 11,62 | 1,220 | 8,55 | 0,898 | 0,46 | 48,51 |
| 2. „ „ | 432,5 | 9,63 | 1,0301 | 2,90 | 279,40 | 11,27 | 1,085 | 8,37 | 0,806 | 0,46 | 44,01 |
| In Summa: | — | 82,53 | — | — | 2363,47 | — | 9,443 | — | 6,979 | — | 386,33 |
| Also im Mittel der 8 Tage: | **432,1** | **10,316** | **1,0304** | **2,98** | **307,93** | **11,44** | **1,180** | **8,46** | **0,872** | **0,47** | **48,29** |

verfütterung tritt aber noch viel deutlicher hervor, wenn man die fallende Laktation rechnerisch ausschaltet.

Unter der Annahme eines gleichmäßigen Fortschreitens der Laktation hätte in der zweiten Periode eine Milch gewonnen werden müssen, die enthielt:

| | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge kg | Trockensubstanz kg | Fettfreie Trockensubstanz kg |
|---|---|---|---|---|---|
| Kuh C . . . . . . . . | 8,578 | 3,29 | 290,04 | 1,038 | 0,754 |
| Kuh D . . . . . . . . | 11,026 | 2,87 | 316,53 | 1,244 | 0,927 |
| Es wurden aber tatsächlich in der zweiten Periode nur ermolken: | | | | | |
| Kuh C . . . . . . . . | 6,673 | 3,35 | 222,96 | 0,797 | 0,574 |
| Kuh D . . . . . . . . | 8,066 | 2,60 | 209,38 | 0,874 | 0,665 |
| Folglich durch Weglassung des Harnstoffes mehr (+) oder weniger (—) als berechnet: | | | | | |
| Kuh C . . . . . . . . | — 1,905 | — 0,04 | — 67,08 | —0,241 | — 0,180 |
| Kuh D . . . . . . . . | — 2,960 | — 0,27 | —107,15 | —0,370 | — 0,262 |

Im Vergleich zu dem Mittel aus den beiden Grundfutterperioden 1 und 3 ist also bei beiden Versuchskühen ein starker Abfall der Milchleistung festzustellen. Es waren hiernach durch 150 g Harnstoff mehr geliefert worden:

bei Kuh C . . . 1,905 kg Milch und 0,241 kg Trockensubstanz
„ „ D . . . 2,960 „ „ „ 0,370 „ „

Oder mit anderen Worten, aus 1 kg Harnstoff waren bei der Kuh C 12,70 kg Milch und 1,606 kg Milchtrockensubstanz und bei der Kuh D sogar 19,73 kg Milch und 2,467 kg Milchtrockensubstanz erzeugt worden.

Aus diesem Versuche dürfte mit aller Sicherheit hervorgehen, daß der Harnstoff die Milchbildung in jeder Weise gefördert hat. Es muß dies einmal aus der Tatsache gefolgert werden, daß nach Weglassen des Harnstoffs in der zweiten Periode die Milch beider Versuchstiere sowohl in bezug auf die Menge der Milch als auch deren Bestandteile einen wesentlichen Rückgang erfahren hat, daß sogleich aber eine Zunahme nach beiden Richtungen hin wieder eintrat, als in der dritten Periode abermals 150 g Harnstoff pro Kopf und Tag zugelegt wurden. Zu einem gleichen Resultat muß man aber auch schon auf Grund der Ergebnisse von Periode 1 und 3 kommen, weil die Zufuhr an verdaulichem Rohprotein bzw. Reineiweiß in der aus Maisschrot, Kartoffelflocken, Melasse- und Trockenschnitzel sowie Haferstroh bestehenden Futterration eine durchaus ungenügende war. Die betreffenden Futterrationen enthielten auf rund 382 bzw. 434 kg durchschnittliches Lebendgewicht 184 bzw. 191 g verdauliches Eiweiß. Das sind, auf 500 kg Lebendgewicht umgerechnet, 241 g für Kuh C und 220 g für die andere Versuchskuh. Nun gehen ja heute die Ansichten über den Eiweißbedarf des Rindes zur Lebenderhaltung noch weit auseinander. Die Angaben schwanken von 100 bis 325 g verdauliches Eiweiß je 500 kg Lebendgewicht. In der weitaus größten Mehrzahl der Fälle werden jedoch 250 bis 300 g verdauliches Eiweiß als zur Lebenderhaltung notwendig bezeichnet. Nur *Hofmann Bang* sieht 100 bis 125 g als genügend an. Demgegenüber bezeichnen jedoch *O. Kellner* 250 bis 300 g, *B. Sjollema* 325 g und die schwedischen Kontrollvereine 275 bis 300 g pro 500 kg Lebendgewicht als erforderlich. Hiernach hätten die von uns im Grundfutter verabfolgten Mengen an verdaulichem Eiweiß entweder überhaupt nicht oder doch bloß ganz unzureichend zur Lebenderhaltung genügt, aber niemals noch zur Produktion von täglich rund 10 kg Milch ausgereicht. Es muß also auch aus diesen Erwägungen heraus angenommen werden, daß der in den Perioden 1 und 3 verfütterte Harnstoff als Eiweißersatz sowohl zur Lebenderhaltung als auch zur Milchbildung gedient hat.

Eine weitere Bestätigung findet diese Annahme, wenn wir die ganze Stickstoffbilanz verfolgen. So wurden den Versuchstieren an Gesamt- und Eiweiß-N täglich im Futter zugeführt:

| | 1. Periode | | 2. Periode | | 3. Periode | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Gesamt-N g | Eiweiß-N g | Gesamt-N g | Eiweiß-N g | Gesamt-N g | Eiweiß-N g |
| **Kuh C.** | | | | | | |
| Maisschrot | 29,070 | 27,873 | 29,410 | 28,199 | 29,410 | 28,199 |
| Kartoffelflocken | 19,600 | 11,200 | 19,600 | 11,200 | 19,600 | 11,200 |
| Melasseschnitzel | 21,594 | 11,224 | 21,240 | 11,040 | 21,240 | 11,040 |
| Trockenschnitzel | 6,930 | 5,895 | 6,776 | 5,764 | 6,776 | 5.764 |
| Haferstroh | 8,778 | 8,085 | 8,512 | 7,840 | 8,550 | 7,875 |
| Harnstoff | 69,495 | — | — | — | 69,495 | — |
| Insgesamt | 155,467 | 64,277 | 85,538 | 64,043 | 155,521 | 64,078 |

| | 1. Periode | | 2. Periode | | 3. Periode | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Gesamt-N g | Eiweiß-N g | Gesamt-N g | Eiweiß-N g | Gesamt-N g | Eiweiß-N g |
| | | | Kuh D. | | | |
| Maisschrot . . . . . . | 29,070 | 27,873 | 29,410 | 28,199 | 29,410 | 28,199 |
| Kartoffelflocken . . . | 19,600 | 11,200 | 19,600 | 11,200 | 19,600 | 11,200 |
| Melasseschnitzel . . . . | 21,594 | 11,224 | 21,240 | 11,040 | 21,240 | 11,040 |
| Trockenschnitzel . . . | 6,930 | 5,895 | 6,776 | 5,764 | 6,776 | 5,764 |
| Haferstroh . . . . . . | 12,768 | 11,760 | 12,388 | 11,410 | 12,464 | 11,480 |
| Harnstoff . . . . . . . | 69,495 | — | — | — | 69,495 | — |
| Insgesamt . . . . . . | **159,457** | **67,952** | **89,414** | **67,618** | **159,435** | **67,683** |

Was demgegenüber die Stickstoffausscheidungen in der Milch anbetrifft, so sind die einzelnen Daten aus den nachfolgenden Tabellen ersichtlich. Über die Stickstoffausscheidungen im Harn geben die nachstehenden tabellarischen Zusammenstellungen Auskunft (s. die Tabellen auf nächster und nächstfolgender Seite).

Im frischen Mischkote waren, berechnet auf wasserfreie Substanz, enthalten:

| | 1. Periode | | 2. Periode | | 3. Periode | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Gesamt-N Proz. | Eiweiß-N Proz. | Gesamt-N Proz. | Eiweiß-N Proz. | Gesamt-N Proz. | Eiweiß-N Proz. |
| Kuh C . . . . | 2,316 | 1,947 | 1,398 | 1,211 | 2,644 | 2,250 |
| Kuh D . . . | 2,201 | 1,844 | 1,508 | 1,333 | 2,412 | 1,990 |

Es stellten sich demnach in der ersten und dritten Periode, in welchen Harnstoff gegeben wurde, nach den bereits vorgeführten Tabellen die täglichen Einnahmen und Ausgaben an Stickstoff überhaupt auf folgende Werte:

| | Kuh C | | Kuh D | |
|---|---|---|---|---|
| | 1. Periode g | 3. Periode g | 1. Periode g | 3. Periode g |
| *Einnahmen:* im Futter . . . . . | 155,467 | 155.521 | 159,457 | 159,435 |
| *Ausgaben:* im Kot . . . . . . . | 59,800 | 66,047 | 65,964 | 63,194 |
| Verdaut (Differenz) . . . . . . . | 95,667 | 89,474 | 93,493 | 96,241 |
| Im Harn . . . . . . . . . . . | 41,470 | 40,530 | 41,290 | 43,240 |
| In der Milch . . . . . . . . . . | 46,900 | 35,900 | 51,110 | 48,290 |
| Verlust (—) oder Gewinn (+) am Körper . | **+ 7,297** | **+ 13,044** | **— 1,093** | **+ 4,711** |

In der zweiten Periode, in welcher das gleiche Futter, nur unter Weglassung des Harnstoffs, verabfolgt wurde, gestaltete sich die Stickstoffbilanz folgendermaßen:

| | Kuh C g N | Kuh D g N |
|---|---|---|
| *Einnahmen:* im Futter . . . . . . . . . . . . | 85,538 | 89,414 |
| *Ausgaben:* im Kot . . . . . . . . . . . . . . | 46,805 | 54,906 |
| Verdaut (Differenz) . . . . . . . . . . . . . | 38,733 | 34,508 |
| Im Harn . . . . . . . . . . . . . . . . . | 16,320 | 16,400 |
| In der Milch . . . . . . . . . . . . . . . | 30,530 | 34,260 |
| Verlust (—) oder Gewinn (+) am Körper . . | **—8,117** | **—16,152** |

Kuh C. 1. bis 3. Periode. Grundfutter + 150 g Harnstoff in der 1. und 3. Periode, ohne Harnstoff in der 2. Periode

| Datum | Kot | | | Harn | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kot frisch kg | Kottrockensubstanz Proz. | Gesamtmenge der Kottrockensubstanz kg | Menge kg | Spez. Gewicht bei 18° C | Stickstoffgehalt Proz. | Stickstoffmenge g |
| | | | 1. Periode. | | | | |
| 24. VIII. 1922 | 19,73 | 14,05 | 2,773 | 6,48 | 1,027 | 0,62 | 40,18 |
| 25. „ „ | 19,42 | 13,87 | 2,694 | 9,75 | 1,020 | 0,43 | 41,54 |
| 26. „ „ | 17,76 | 13,43 | 2,385 | 8,61 | 1,024 | 0,52 | 44,43 |
| 27. „ „ | 19,98 | 13,57 | 2,711 | 6,05 | 1,027 | 0,54 | 32,85 |
| 28. „ „ | 18,95 | 13,24 | 2,509 | 8,71 | 1,026 | 0,52 | 45,03 |
| 29. „ „ | 19,69 | 12,91 | 2,542 | 7,52 | 1,026 | 0,54 | 40,91 |
| 30. „ „ | 18,99 | 12,71 | 2,413 | 8,19 | 1,025 | 0,52 | 42,51 |
| 31. „ „ | 20,79 | 12,67 | 2,626 | 8,16 | 1,025 | 0,54 | 44,31 |
| Im Mittel . . . | 19,41 | 13,30 | **2,582** | 7,93 | 1,025 | 0,53 | **41,47** |
| | | | 2. Periode. | | | | |
| 9. IX. 1922 | 24,91 | 12,56 | 3,129 | 6,49 | 1,026 | 0,24 | 15,84 |
| 10. „ „ | 25,46 | 12,48 | 3,178 | 5,96 | 1,028 | 0,26 | 15,50 |
| 11. „ „ | 23,16 | 12,67 | 2,935 | 6,98 | 1,026 | 0,25 | 17,45 |
| 12. „ „ | 27,43 | 12,85 | 3,526 | 6,54 | 1,026 | 0,26 | 16,74 |
| 13. „ „ | 28,52 | 12,39 | 3,533 | 6,44 | 1,027 | 0,26 | 17,05 |
| 14. „ „ | 31,58 | 10,91 | 3,447 | 3,86 | 1,031 | 0,32 | 12,43 |
| 15. „ „ | 29,51 | 11,98 | 3,535 | 7,36 | 1,028 | 0,26 | 19,14 |
| 16. „ „ | 27,23 | 12,86 | 3,503 | 6,52 | 1,027 | 0,25 | 16,43 |
| Im Mittel . . . | 27,23 | 12,30 | **3,348** | 6,27 | 1,027 | 0,26 | **16,32** |
| | | | 3. Periode. | | | | |
| 25. IX. 1922 | 16,76 | 14,20 | 2,380 | 6,58 | 1,029 | 0,56 | 37,05 |
| 26. „ „ | 18,78 | 14,57 | 2,737 | 7,85 | 1,030 | 0,57 | 44,35 |
| 27. „ „ | 14,38 | 14,74 | 2,119 | 9,01 | 1,029 | 0,53 | 48,11 |
| 28. „ „ | 18,63 | 14,31 | 2,666 | 7,38 | 1,030 | 0,51 | 37,71 |
| 29. „ „ | 17,45 | 14,41 | 2,515 | 7,59 | 1,029 | 0,57 | 42,96 |
| 30. „ „ | 19,01 | 13,25 | 2,519 | 5,93 | 1,030 | 0,62 | 36,88 |
| 1. X. „ | 20,91 | 12,40 | 2,592 | 6,85 | 1,032 | 0,60 | 41,17 |
| 2. „ „ | 20,01 | 12,29 | 2,459 | 5,83 | 1,031 | 0,62 | 36,03 |
| Im Mittel . . . | 18,24 | 13,69 | **2,498** | 7,13 | 1,030 | 0,57 | **40,58** |

Kuh D. 1. bis 3. Periode. Grundfutter + 150 g Harnstoff in der 1. und 3. Periode, ohne Harnstoff in der 2. Periode.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1. Periode. | | | | |
| 24. VIII. 1922 | 23,14 | 13,44 | 3,110 | 5,64 | 1,033 | 0,74 | 41,74 |
| 25. „ „ | 24,03 | 13,20 | 3,171 | 5,72 | 1,033 | 0,78 | 44,62 |
| 26. „ „ | 23,46 | 13,46 | 3,160 | 6,65 | 1,033 | 0,66 | 44,02 |
| 27. „ „ | 21,61 | 14,02 | 3,029 | 8,96 | 1,031 | 0,58 | 51,88 |
| 28. „ „ | 21,42 | 13,64 | 2,922 | 6,50 | 1,033 | 0,60 | 38,74 |
| 29. „ „ | 20,82 | 13,16 | 2,740 | 6,44 | 1,034 | 0,58 | 37,29 |
| 30. „ „ | 23,69 | 13,20 | 3,128 | 6,67 | 1,033 | 0,55 | 36,55 |
| 31. „ „ | 20,05 | 13,53 | 2,713 | 6,24 | 1,033 | 0,57 | 35,44 |
| Im Mittel . . . | 22,28 | 13,45 | **2,997** | 6,60 | 1,033 | 0,63 | **41,29** |

| Datum | Kot: Kot frisch kg | Kot: Kottrockensubstanz Proz. | Kot: Gesamtmenge der Kottrockensubstanz kg | Harn: Menge kg | Harn: Spez. Gewicht bei 18° C | Harn: Stickstoffgehalt Proz. | Harn: Stickstoffmenge g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 2. Periode. | | | | |
| 9. IX. 1922 | 31,56 | 12,02 | 3,794 | 6,00 | 1,035 | 0,30 | 17,76 |
| 10. „ „ | 28,93 | 12,09 | 3,498 | 5,11 | 1,034 | 0,28 | 14,26 |
| 11. „ „ | 28,99 | 12,22 | 3,543 | 6,66 | 1,033 | 0,26 | 17,38 |
| 12. „ „ | 30,49 | 11,71 | 3,571 | 6,41 | 1,033 | 0,26 | 16,73 |
| 13. „ „ | 28,70 | 12,44 | 3,569 | 6,37 | 1,033 | 0,26 | 15,56 |
| 14. „ „ | 27,44 | 13,47 | 3,696 | 6,31 | 1,033 | 0,26 | 16,28 |
| 15. „ „ | 26,78 | 13,27 | 3,555 | 6,40 | 1,033 | 0,26 | 16,77 |
| 16. „ „ | 29,56 | 13,20 | 3,903 | 5,91 | 1,033 | 0,26 | 15,48 |
| Im Mittel . . . | 29,06 | 12,53 | **3,641** | 6,15 | 1,033 | 0,27 | **16,40** |
| | | | 3. Periode. | | | | |
| 25. IX. 1922 | 17,91 | 14,12 | 2,530 | 7,62 | 1,032 | 0,53 | 40,61 |
| 26. „ „ | 17,33 | 14,47 | 2,507 | 7,67 | 1,032 | 0,52 | 39,73 |
| 27. „ „ | 18,42 | 14,16 | 2,609 | 6,62 | 1,033 | 0,57 | 37,60 |
| 28. „ „ | 18,05 | 14,77 | 2,666 | 7,69 | 1,032 | 0,55 | 42,60 |
| 29. „ „ | 19,16 | 14,36 | 2,752 | 8,33 | 1,032 | 0,52 | 43,40 |
| 30. „ „ | 18,20 | 14,26 | 2,595 | 6,61 | 1,032 | 0,57 | 37,61 |
| 1. X. „ | 18,76 | 14,32 | 2,687 | 8,31 | 1,034 | 0,62 | 51,61 |
| 2. „ „ | 18,08 | 14,46 | 2,615 | 8,49 | 1,030 | 0,62 | 52,72 |
| Im Mittel . . . | 18,42 | 14,22 | **2,620** | 7,67 | 1,032 | 0,56 | **43,24** |

Aus diesen Bilanzaufstellungen ergibt sich mit aller Deutlichkeit, daß in der ersten und dritten Periode die einschließlich des im Harnstoff enthaltenen Stickstoffs verabfolgte Stickstoffmenge bei der Kuh C nicht nur zur Lebenderhaltung und zur Milchbildung genügt hat, sondern daß sogar noch Stickstoff vom Körper retiniert wurde. Bei der Kuh D mit der größeren Milchleistung hat diese Stickstoffmenge im ersten Versuchsabschnitt nicht ganz ausgereicht, es mußte vielmehr noch vom Körper zugeschossen werden. Dagegen fand in der dritten Periode, in welcher der Bedarf infolge des durch die fortschreitende Laktation bedingten Milchrückganges nicht mehr so groß war, gleichfalls ein Stickstoffansatz statt. Wurde dagegen, wie in der zweiten Periode, das gleiche Futter, aber ohne Harnstoff, verfüttert, so ging nicht nur die Milchmenge zurück, sondern beide Kühe mußten jetzt auch Fleisch vom Körper zuschießen.

Will man nun noch festzustellen versuchen, inwieweit der Amidstickstoff des Futters und des Harnstoffs direkt zur Milcheiweißbildung beigetragen hat, so muß man vom Eiweißstickstoff des Futters ausgehen und hiervon auch nur die im Kote ausgeschiedene Eiweißstickstoffmenge in Abzug bringen. Wir kommen dann zu der Aufstellung auf folgender Seite oben.

Was zunächst die Ergebnisse mit Kuh C anbetrifft, so ergibt sich für Periode 2 (ohne Harnstoff), daß für Milchbildung und Lebenderhaltung zusammen nur wenig mehr an verdaulichem Eiweißstickstoff einschließlich des Zuschusses vom Körper zur Verfügung stand, als in der Milch allein an Eiweißstickstoff zur Ausscheidung gelangte. Und genau das gleiche trifft für die Versuchskuh D zu. Es muß hieraus mit zwingender Not-

| | 1. Periode g | 2. Periode g | 3. Periode g |
|---|---|---|---|
| **Kuh C** | | | |
| Im Futter | 64,277 | 64,043 | 64,078 |
| Im Kot | 50,272 | 40,544 | 56,205 |
| Verdaut | 14,005 | 23,499 | 7,873 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | + 7,297 | — 8,117 | + 13,044 |
| Für Milch und Erhaltung verfügbar | 6,708 | 31,616 | — 5,171 |
| In der Milch | 46,900 | 30,535 | 35,900 |
| **Kuh D** | | | |
| Im Futter | 67,952 | 67,613 | 67,683 |
| Im Kot | 55,265 | 48,535 | 52,138 |
| Verdaut | 12,687 | 19,078 | 15,545 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | — 1,093 | —16,152 | + 4,711 |
| Für Milch und Erhaltung verfügbar | 13,780 | 35,230 | 10,834 |
| In der Milch | 51,110 | 34,260 | 48,290 |

wendigkeit gefolgert werden, daß der Amidstickstoff des Futters (Melasseschnitzel, Kartoffelflocken usw.) mindestens zur Lebenderhaltung Verwendung gefunden hat. Denn wenn man obige Berechnung für den Gesamt-N durchsieht, so kommt man zu folgenden Ergebnissen:

| | Kuh C g N | Kuh D g N |
|---|---|---|
| Im Futter | 85,538 | 89,414 |
| Im Kot | 46,805 | 54,906 |
| Verdaut (Differenz) | 38,733 | 34,508 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | — 8,117 | — 16,152 |
| Für Milch und Erhaltung verfügbar | 46,850 | 50,660 |
| In der Milch | 30,530 | 34,260 |
| Demnach für Erhaltung verfügbar | 16,320 | 16,400 |

Bezogen auf 500 kg Lebendgewicht, wäre demnach der Bedarf an verdaulichem Rohprotein zur Lebenderhaltung bei Kuh C 134 g und bei Kuh D 118 g. Diese Werte würden erheblich unter dem liegen, was von den meisten Forschern als erforderlich angesehen wird, sie würden dagegen mit den Angaben von *Hofmann Bang* übereinstimmen, der 100 bis 125 g als im allgemeinen genügend bezeichnet. Ob freilich die Kühe auf die Dauer mit dieser geringen Menge von verdaulichem Protein ausgekommen wären, muß dahingestellt bleiben, dürfte aber jedenfalls sehr unwahrscheinlich sein.

Auch in den Harnstoffperioden reichten die zusammen für Milch und Lebenderhaltung zur Verfügung stehenden Mengen an verdautem Eiweißstickstoff in keinem Falle und bei weitem nicht dazu aus, um allein schon den in der Milch zur Ausscheidung gelangten Eiweißstickstoff zu decken. Die letzteren Mengen sind bei beiden Versuchstieren so groß, daß zu deren Deckung auch die Amide des eigentlichen Futters in keiner Weise genügen, sondern daß hier unter allen Umständen der Harnstoff eiweißersetzend gewirkt haben muß. Inwieweit hier der Stickstoff des Harnstoffs und der im Futter enthaltenen Amide für Milch und Lebenderhaltung verfügbar gewesen sein müssen, ergibt sich aus folgender Gegenüberstellung:

| | Kuh C | | Kuh D | |
|---|---|---|---|---|
| | 1. Periode g N | 3. Periode g N | 1. Periode g N | 3. Periode g N |
| Im Futter | 155,467 | 155,521 | 159,457 | 159,435 |
| Im Kot | 59,800 | 66,047 | 65,964 | 63,194 |
| Verdaut (Differenz) | 95,667 | 89,474 | 93,493 | 96,241 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | + 7,297 | +13,044 | — 2,907 | + 4,711 |
| Für Milch und Erhaltung verfügbar | 88,370 | 76,430 | 96,400 | 91,530 |
| In der Milch | 46,900 | 35,900 | 51,100 | 48,290 |
| Demnach für Erhaltung verfügbar | 41,470 | 40,530 | 45,300 | 43,240 |

Also nur wenn man den Amidstickstoff des Futters und des Harnstoffs mit heranzieht, erst dann ist eine Deckung des Stickstoffbedarfs für die Lebenserhaltung und für das in der Milch ausgeschiedene Eiweiß vorhanden. Im Durchschnitt der beiden Perioden wären ferner hiernach für Kuh C rund 260 g und für Kuh D 295 g verdauliches Rohprotein zur Lebenserhaltung erforderlich gewesen, sofern man wenigstens den gesamten verdauten Stickstoff auf Rohprotein umrechnet.

*Die oben angeführten Stickstoffbilanzen zeigen also, daß der Stickstoff des Harnstoffs unter allen Umständen für die Lebenderhaltung und an der Milchbildung beteiligt gewesen sein muß.*

Wie schon von anderer Seite dargelegt worden ist, rührt aber der im Kote ermittelte Eiweiß-N durchaus nicht ausschließlich vom unverdauten Futtereiweiß her, sondern stammt zum Teil auch von den stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukten. Er kann aber auch aus dem mitverfütterten Harnstoff entstanden sein, denn die Differenz zwischen der Menge des Futter- und des Koteiweißes ist kein genaues Maß für die verdaute Eiweißmenge, die in Wirklichkeit unzweifelhaft größer ist, als dieser Differenz entspricht. Wir haben deshalb hier nach dem Vorschlage von *A. Morgen* die Menge des nicht aus dem Futter herrührenden Eiweiß-N bestimmt. An pepsinsalzsäureunlöslichem Stickstoff fanden wir:

| Kuh C | | | Kuh D | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. Periode | 2. Periode | 3. Periode | 1. Periode | 2. Periode | 3. Periode |
| 1,470 Proz. = 37,85 g | 0,916 Proz. = 30,77 g | 1,698 Proz. = 42,86 g | 1,440 Proz. = 43,22 g | 1,104 Proz. = 31,97 g | 1,525 Proz. = 39,95 g |

Wir finden dann:

| | Kuh C | | | Kuh D | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1. Periode | 2. Periode | 3. Periode | 1. Periode | 2. Periode | 3. Periode |
| Gesamtstickstoff im Kote an g N | 59,80 | 46,81 | 66,05 | 65,96 | 54,91 | 63,20 |
| Davon pepsinsalzsäureunlöslich | 37,85 | 30,77 | 42,86 | 43,22 | 31,97 | 39,95 |
| Mithin pepsinsalzsäurelöslich | 21,95 | 16,04 | 23,19 | 22,74 | 22,74 | 23,25 |
| Hierzu 33 v. H. | 7,24 | 5,29 | 7,65 | 7,50 | 7,57 | 7,67 |
| Pepsinsalzsäurelöslich (korrigiert) | 29,19 | 21,33 | 30,84 | 30,24 | 30,51 | 30,92 |

Setzt man diese Zahlen in die Eiweißstickstoffbilanz ein, so erhält man folgendes Bild:

| | 1. Periode mit Harnstoff g | 2. Periode ohne Harnstoff g | 3. Periode mit Harnstoff g |
|---|---|---|---|
| **Kuh C** | | | |
| Im Futter | 64,28 | 64,04 | 64,08 |
| Im Kot | 55,27 | 40,54 | 56,21 |
| Hiervon pepsinsalzsäurelöslich | 29,19 | 21,33 | 30,84 |
| Unverdaulicher Futterrest | 21,08 | 19,31 | 25,37 |
| Wirklich verdaut | 43,20 | 44,73 | 38,71 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | + 7,30 | — 8,12 | + 13,04 |
| Für Lebenderhaltung und Produktion demnach vorhanden | 35,90 | 52,85 | 25,67 |
| In der Milch ausgeschieden | 46,90 | 30,53 | 35,90 |
| Es fehlen also für die Bildung des Milcheiweißstickstoffes | 11,00 | — | 10,23 |
| **Kuh D** | | | |
| Im Futter | 67,95 | 67,61 | 67,68 |
| Im Kot | 55,27 | 48,54 | 52,14 |
| Davon pepsinsalzsäurelöslich | 30,24 | 30,51 | 30,92 |
| Unverdaulicher Futterrest | 25,03 | 18,03 | 21,22 |
| Wirklich verdaut | 42,92 | 49,58 | 46,46 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | — 1,09 | — 16,15 | + 4,71 |
| Für Lebenderhaltung und Produktion demnach vorhanden | 44,01 | 65,73 | 41,75 |
| In der Milch ausgeschieden | 51,11 | 34,26 | 48,29 |
| Es fehlen also für die Bildung des Milcheiweißstickstoffes | 7,10 | — | 6,54 |

Also auch diese Art der Berechnung ergibt, daß in den Harnstoffperioden der Futtereiweiß-N schon nicht einmal zur Bildung des wirklich ausgeschiedenen Milcheiweißes ausgereicht hat und daß, selbst wenn man eine Deckung des N-Bedarfs für die Lebenserhaltung völlig aus den stickstoffhaltigen Verbindungen nichteiweißartiger Natur für möglich annehmen wollte, trotzdem auch noch Amid-N zur Bildung von Milcheiweiß Verwendung gefunden haben muß. Hierbei wäre aber außerdem die weitere Annahme eine unerläßliche Voraussetzung, nämlich daß das produzierte Milcheiweiß, soweit im vorliegenden Falle eine Bildung aus Futtereiweiß stattgefunden hat, quantitativ aus Futtereiweiß entstanden sein müßte. Die Möglichkeit, daß die gesamte Menge des verfügbaren Eiweiß-N tatsächlich in die Milch übergegangen sein könnte, dürfte unter den hier eingehaltenen Versuchsbedingungen vorhanden gewesen sein.

Will man weiterhin feststellen, in welchem Verhältnis die für die Milchbildung verfügbare zu der in der Milch wirklich abgesonderten Stickstoffmenge steht, so muß man in der Weise verfahren, daß man von dem verdauten Stickstoff den Betrag abzieht, der zur Lebenserhaltung des betreffenden Tieres notwendig ist.

| | Verdaut g | Im Harn g | In der Milch g | An- + bzw. zugesetzt (—) g | Zur Lebenserhaltung erforderlich[1]) g | Für die Milch verfügbar g | In der Milch in Proz. der verfügbaren Menge g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Kuh C | | | | |
| 1. mit Harnstoff | 95,667 | 41,470 | 46,900 | + 7,297 | 31 | 57,370 | 82 |
| 2. ohne Harnstoff | 38,733 | 16,320 | 30,530 | — 8,117 | 31 | 15,890 | — 52 |
| 3. mit Harnstoff | 89,474 | 40,530 | 35,900 | + 13,004 | 31 | 45,470 | 79 |
| | | | Kuh D | | | | |
| 1. mit Harnstoff | 93,493 | 41,290 | 51,110 | — 1,093 | 35 | 61,400 | 83 |
| 2. ohne Harnstoff | 34,508 | 16,400 | 34,260 | — 16,152 | 35 | 15,660 | — 46 |
| 3. mit Harnstoff | 96,241 | 43,240 | 48,290 | + 4,711 | 35 | 56,530 | 85 |

Aus den hier angeführten Zahlen ist zunächst zu entnehmen, daß je nach der Höhe der Stickstoffzufuhr und der gleichzeitigen Milchleistung recht verschiedene Mengen des über den bloßen Erhaltungsbedarf hinausgereichten Stickstoffs in die Milch übergehen können. Bei beiden Versuchskühen ergibt sich für die Harnstoffperioden eine sehr gute Übereinstimmung sowohl in bezug auf die beiden Perioden als auch bezüglich der zwei Versuchstiere untereinander. In dem Versuche mit der Kuh C hat eine Verwertung des zur Milchbildung verfügbaren Stickstoffs zu 81 Proz. im Durchschnitt beider Perioden und bei Kuh D zu 84 Proz. stattgefunden. Dagegen ergibt sich für die beiden Perioden ohne Harnstoff, daß hier mehr Stickstoff in der Milch ausgeschieden wurde, als zu diesem Zwecke überhaupt zur Verfügung stand, sofern man in diesen Perioden die Menge von 31 bzw. 35 g N als für die Lebenserhaltung erforderlich annimmt. Eine Erklärung hierfür ist aber nur in dem Sinne möglich, daß die Tiere zum mindesten in diesen beiden Perioden (ohne Harnstoff) eine wesentlich geringere N-Menge zur Lebenserhaltung benötigten, nämlich, wie wir schon oben gezeigt haben, nur 16 g N. Es würden dann für die Kuh C zur Milchbildung zur Verfügung gestanden haben 30,850 g, während in der Milch tatsächlich 30,530 g ausgeschieden wurden, und für die Kuh D 34,659 g gegenüber einer wirklichen N-Ausscheidung in der Milch von 34,260 g.

Würden wir diese Rechnung in gleicher Weise, aber unter Einsetzung nicht des verdauten Gesamt-N, sondern nur des verdaulichen Eiweiß-N ausführen, so würden wir in allen Fällen zu negativen Ergebnissen kommen, d. h. es wäre in der Milch mehr Eiweiß-N ausgeschieden worden, als im Futter überhaupt zur Verfügung gestanden hat. Infolgedessen dürfte auch hieraus wiederum folgern, daß der Amid-N des Futters einen wesentlichen Anteil an der Bildung des Milcheiweißes gehabt haben muß.

Es erübrigt sich nun, noch zu untersuchen, wie die Harnstoffverfütterung auf die Verdaulichkeit des gesamten Futters gewirkt hat. Die Futterration an sich war verhältnismäßig arm an stickstoffhaltiger Substanz, insonderheit an Eiweiß, dagegen reich an hoch verdaulichen Kohlehydraten. Eine Verdauungsdepression, wie sie unter solchen Umständen einzutreten pflegt, mußte also, entsprechend den Beobachtungen, die man mit der Verfütterung anderer Amide unter gleichen Verhältnissen gemacht hatte, gegebenenfalls durch die Beifütterung von Harnstoff aufgehoben werden.

[1]) Für die Lebenserhaltung sind nach dem Vorschlag von *O. Kellner* 40 g Stickstoff pro 500 g Lebendgewicht angenommen worden.

Die Futterrationen setzten sich wie folgt zusammen:

Kuh C.

| | Trocken-substanz kg | Organische Substanz kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohfett (Ätherextrakt) kg | Rohfaser kg |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1. Periode. | | | |
| Maisschrot . . . . . | 1,710 | 1,672 | 1,374 | 0,074 | 0,042 |
| Trockenschnitzel . . | 0,450 | 0,432 | 0,312 | 0,001 | 0,072 |
| Melasseschnitzel . . | 1,220 | 1,146 | 0,906 | 0,002 | 0,103 |
| Kartoffelflocken . . | 1,750 | 1,683 | 1,534 | 0,004 | 0,022 |
| Haferstroh . . . . . | 2,310 | 2,220 | 1,078 | 0,040 | 1,037 |
| Zusammen . . . . . | 7,440 | 7,153 | 5,204 | 0,122 | 1,276 |
| | | 2. Periode. | | | |
| Maisschrot . . . . . | 1,730 | 1,692 | 1,390 | 0,075 | 0,042 |
| Trockenschnitzel . . | 0,440 | 0,442 | 0,305 | 0,001 | 0,071 |
| Melasseschnitzel . . | 1,200 | 1,127 | 0,891 | 0,002 | 0,101 |
| Kartoffelflocken . . | 1,750 | 1,683 | 1,535 | 0,004 | 0,022 |
| Haferstroh . . . . . | 2,240 | 2,143 | 1,045 | 0,039 | 1,005 |
| Zusammen . . . . . | 7,360 | 7,087 | 5,166 | 0,121 | 1,241 |
| | | 3. Periode. | | | |
| Maisschrot . . . . . | 1,730 | 1,692 | 1,390 | 0,075 | 0,042 |
| Trockenschnitzel . . | 0,440 | 0,442 | 0,305 | 0,001 | 0,071 |
| Melasseschnitzel . . | 1,200 | 1,127 | 0,891 | 0,002 | 0,101 |
| Kartoffelflocken . . | 1,750 | 1,684 | 1,535 | 0,004 | 0,022 |
| Haferstroh . . . . . | 2,250 | 2,153 | 1,050 | 0,040 | 1,010 |
| Zusammen . . . . . | 7,370 | 7,098 | 5,171 | 0,122 | 1,246 |

Da alle Futtermittel für beide Versuchskühe gleichzeitig ausgewogen wurden, so ändert sich für die Kuh D die Futterration nur insofern, als dieses Tier mehr Stroh zu fressen bekam. Wir geben demgemäß nur die gesamte Nährstoffmenge an, welche in Maisschrot, Kartoffelflocken, Trocken- und Melasseschnitzel zusammen enthalten war.

Kuh D.

| | Trocken-substanz kg | Organische Substanz kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohfett (Ätherextrakt) kg | Rohfaser kg |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1. Periode. | | | |
| Im Kraftfutter (Maisschrot, Schnitzel usw.) | 5,130 | 4,934 | 4,126 | 0,081 | 0,239 |
| Haferstroh . . . . . | 3,360 | 3,215 | 1,567 | 0,059 | 1,508 |
| Zusammen . . . . . | 8,490 | 8,149 | 5,693 | 0,140 | 1,747 |
| | | 2. Periode. | | | |
| Im Kraftfutter . . . | 5,130 | 4,925 | 4,120 | 0,082 | 0,236 |
| Haferstroh . . . . . | 3,260 | 3,119 | 1,521 | 0,057 | 1,463 |
| Zusammen . . . . . | 8,390 | 8,044 | 5,641 | 0,139 | 1,699 |
| | | 3. Periode. | | | |
| Im Kraftfutter . . . . | 5,130 | 4,925 | 4,120 | 0,082 | 0,236 |
| Haferstroh . . . . . | 3,280 | 3,138 | 1,530 | 0,058 | 1,472 |
| Zusammen . . . . . | 8,410 | 8,063 | 5,650 | 0,140 | 1,708 |

Die in diesen Perioden ausgeschiedenen Fäzes enthielten in der wasserfreien Substanz:

| | Organische Substanz Proz. | Roh-protein Proz. | Gesamt-Stickstoff Proz. | N-freie Extraktstoffe Proz. | Rohfett (Ätherextrakt) Proz. | Roh-faser Proz. | Rein-asche Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Kuh C. | | | | |
| 1. Periode . | 92,39 | 13,73 | 2,197 | 48,77 | 2,19 | 27,70 | 7,61 |
| 2. „ . | 91,34 | 8,10 | 1,296 | 50,80 | 1,82 | 30,62 | 8,66 |
| 3. „ . | 89,24 | 15,61 | 2,498 | 47,66 | 2,13 | 23,84 | 10,76 |
| | | | Kuh D. | | | | |
| 1. Periode . | 92,05 | 13,18 | 2,110 | 45,33 | 2,39 | 31,15 | 7,95 |
| 2. „ . | 92,76 | 8,83 | 1,410 | 48,04 | 1,92 | 33,97 | 7,24 |
| 3. „ . | 87,23 | 13,66 | 2,186 | 45,70 | 2,17 | 25,70 | 12,77 |

Aus der Differenz zwischen Einnahmen und Ausgaben ergibt sich dann die Menge der verdauten Nährstoffe:

| | Organische Substanz kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohfett (Ätherextrakt) kg | Rohfaser kg |
|---|---|---|---|---|
| | Kuh C. | 1. Periode. | | |
| Im Futter . . . . . | 7,153 | 5,204 | 0,122 | 1,276 |
| Im Kote . . . . . . | 2,384 | 1,258 | 0,057 | 0,715 |
| Verdaut in kg . . . | 4,769 | 3,946 | 0,065 | 0,561 |
| | | 2. Periode. | | |
| Im Futter . . . . . | 7,088 | 5,166 | 0,121 | 1,241 |
| Im Kote . . . . . . | 3,058 | 1,701 | 0,061 | 1,025 |
| Verdaut in kg . . . | 4,030 | 3,465 | 0,060 | 0,216 |
| | | 3. Periode. | | |
| Im Futter . . . . . | 7,098 | 5,171 | 0,122 | 1,246 |
| Im Kote . . . . . . | 2,229 | 1,191 | 0,053 | 0,596 |
| Verdaut in kg . . . | 4,869 | 3,980 | 0,069 | 0,650 |
| | Kuh D. | 1. Periode. | | |
| Im Futter . . . . . | 8,149 | 5,693 | 0,140 | 1,747 |
| Im Kote . . . . . . | 1,759 | 1,359 | 0,072 | 0,934 |
| Verdaut in kg . . . | 5,390 | 4,334 | 0,068 | 0,813 |
| | | 2. Periode. | | |
| Im Futter . . . . . | 8,044 | 5,641 | 0,139 | 1,699 |
| Im Kote . . . . . . | 3,377 | 1,749 | 0,070 | 1,237 |
| Verdaut in kg . . . | 4,667 | 3,892 | 0,069 | 0,462 |
| | | 3. Periode. | | |
| Im Futter . . . . . | 8,063 | 5,650 | 0,140 | 1,708 |
| Im Kote . . . . . . | 2,285 | 1,197 | 0,057 | 0,673 |
| Verdaut in kg . . . | 5,778 | 4,453 | 0,083 | 1,035 |

Man sieht hieraus, daß in den Perioden, in welchen Harnstoff verfüttert wurde, ganz allgemein eine bessere Verdaulichkeit aller Nährstoffgruppen zu verzeichnen ist als in den Perioden, in denen eine Harnstoff-

zufütterung unterblieb. Stellt man den Mittelwert der in den Harnstoffperioden verdauten Nährstoffmengen denjenigen in den Perioden ohne Harnstoff gegenüber, so ergibt sich folgendes:

| | Trockensubstanz | | Organische Substanz | | N-freie Extraktstoffe | | Rohfett (Ätherextrakt) | | Rohfaser | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | kg | Proz. | kg | Proz. | kg | Proz. | kg | Proz. | kg | Proz. |
| **Kuh C.** | | | | | | | | | | |
| In den beiden Harnstoffperioden verdaut . . | 5,016 | 66,3 | 4,819 | 67,6 | 3,963 | 76,4 | 0,067 | 55,0 | 0,606 | 48,1 |
| In der zweiten Periode ohne Harnstoff verdaut | 4,012 | 54,5 | 4,030 | 56,7 | 3,465 | 67,1 | 0,060 | 49,9 | 0,216 | 17,4 |
| Demgemäß bei Harnstoffverfütterung mehr (+) od. weniger (—) verdaut | -1,004 | -11,8 | -0,789 | -10,9 | -0,498 | -9,3 | -0,007 | -5,1 | -0,390 | -30,7 |
| **Kuh D.** | | | | | | | | | | |
| In den beiden Harnstoffperioden verdaut . . . | 5,786 | 67,3 | 5,584 | 68,9 | 4,394 | 77,5 | 0,076 | 75,9 | 0,924 | 53,6 |
| In der zweiten Periode ohne Harnstoff verdaut | 4,739 | 56,6 | 4,667 | 58,0 | 3,892 | 69,0 | 0,069 | 69,6 | 0,462 | 27,2 |
| Demgemäß bei Harnstoffverfütterung mehr (+) od. weniger (—) verdaut | -1,047 | -10,7 | -0,917 | -10,9 | -0,502 | -8,5 | -0,007 | -6,3 | -0,462 | -26,4 |

Die in den beiden mittleren Perioden durch Weglassung des Harnstoffs hervorgerufene Verdauungsdepression ist also zum Teil eine recht erhebliche und betrifft ausnahmslos alle in Frage kommenden Nährstoffgruppen. Auch zeigen in dieser Beziehung die beiden Versuchskühe untereinander eine sehr gute Übereinstimmung. Aus dieser ohne jeglichen Zweifel feststehenden Tatsache, daß die Beifütterung von Harnstoff die infolge eines zu weiten Nährstoffverhältnisses verursachte Verdauungsdepression aufzuheben vermochte, muß logischerweise gleichfalls gefolgert werden, daß der Harnstoff in irgendwelcher Weise an dem Stoffwechsel beteiligt gewesen ist.

Wir haben nun diesen Versuch in ganz ähnlicher Weise mit einem dritten Versuchstiere, bezeichnet als Kuh F, wiederholt. Als Grundfutter wurde gleichmäßig in drei Perioden Maisschrot, Kartoffelflocken, Trockenschnitzel, Haferspelzenmelasse, Wiesenheu und Haferstroh verabfolgt. Außerdem das gleiche Salzgemisch wie vorher. In der ersten und dritten Periode wurden pro Tag 120 g Harnstoff zugelegt. Letzterer enthielt 46,42 Proz. Stickstoff. Die Futtermittel enthielten in der wasserfreien Substanz:

| | Kartoffelflocken | Trockenschnitzel | Maisschrot | Wiesenheu | Haferstroh | Haferspelzenmelasse |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Proz. | Proz. | Proz. | Proz. | Proz. | Proz. |
| Organische Substanz | 95,97 | 95,85 | 97,78 | 89,69 | 94,30 | 93,18 |
| Rohprotein . . . . . | 6,37 | 9,02 | 10,55 | 12,53 | 3,50 | 8,15 |
| Gasamt-N . . . . . . | 1,019 | 1,443 | 1,761 | 2,004 | 0,561 | 1,304 |
| Reineiweiß . . . . . | 4,07 | 7,84 | 10,01 | 11,38 | 3,43 | 4,48 |
| Eiweiß-N . . . . . . | 0,651 | 1,254 | 1,601 | 1,820 | 0,548 | 0,716 |
| Amide . . . . . . . | 2,30 | 1,18 | 0,54 | 1,15 | 0,07 | 3,67 |
| Amid-N . . . . . . . | 0,368 | 0,189 | 0,160 | 0,184 | 0,013 | 0,588 |
| N-freie Extraktstoffe | 87,67 | 68,08 | 80,59 | 42,01 | 46,76 | 65,82 |
| Rohfett (Ätherextrakt) | 0,28 | 0,42 | 4,15 | 2,29 | 0,53 | 0,98 |

| Datum | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Spez. Gew. bei 15° C | Trockensubstanzgehalt Proz. | Trockensubstanzmenge kg | Lebendgewicht g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1. Periode (mit Harnstoff).** | | | | | | | | | | | | | |
| 3. IV. 1923 | 3,47 | 2,95 | 102,36 | 2,25 | 3,40 | 76,50 | 5,72 | 3,12 | 178,86 | 1,0290 | 11,253 | 0,644 | 430,0 |
| 4. " " | 3,26 | 2,80 | 91,28 | 2,26 | 3,20 | 72,32 | 5,52 | 2,96 | 163,60 | 1,0291 | 11,086 | 0,612 | 430,0 |
| 5. " " | 3,62 | 2,70 | 97,74 | 2,53 | 3,15 | 79,69 | 6,15 | 2,88 | 177,43 | 1,0292 | 11,016 | 0,678 | 425,0 |
| 6. " " | 3,48 | 2,70 | 93,96 | 2,52 | 3,10 | 78,12 | 6,00 | 2,86 | 172,08 | 1,0290 | 10,941 | 0,657 | 422,5 |
| 7. " " | 3,40 | 2,70 | 91,80 | 2,53 | 3,40 | 86,02 | 5,93 | 3,00 | 177,82 | 1,0291 | 11,134 | 0,660 | 420,0 |
| 8. " " | 3,40 | 2,55 | 86,70 | 2,42 | 3,35 | 81,07 | 5,82 | 2,88 | 167,77 | 1,0289 | 10,939 | 0,637 | 425,0 |
| 9. " " | 3,82 | 2,70 | 76,14 | 2,45 | 3,20 | 78,40 | 5,27 | 2,93 | 154,54 | 1,0288 | 10,975 | 0,578 | 425,0 |
| 10. " " | 3,32 | 2,90 | 96,28 | 2,22 | 2,95 | 65,49 | 5,54 | 2,92 | 161,77 | 1,0288 | 10,963 | 0,607 | 425,0 |
| Im Durchschnitt pro Tag | 3,35 | 2,74 | 92,03 | 2,39 | 3,23 | 77,20 | **5,74** | **2,98** | **169,23** | 1,0290 | 11,045 | 0,634 | 425,3 |
| **2. Periode (ohne Harnstoff).** | | | | | | | | | | | | | |
| 19. IV. 1923 | 2,93 | 2,30 | 67,39 | 2,00 | 2,80 | 56,00 | 4,93 | 2,50 | 123,39 | 1,0289 | 10,483 | 0,517 | 427,5 |
| 20. " " | 2,96 | 2,40 | 69,84 | 2,03 | 2,75 | 55,82 | 4,94 | 2,54 | 125,66 | 1,0287 | 10,480 | 0,518 | 427,0 |
| 21. " " | 2,95 | 2,30 | 67,85 | 1,97 | 2,50 | 49,52 | 4,92 | 2,38 | 117,10 | 1,0284 | 10,214 | 0,503 | 425,0 |
| 22. " " | 2,83 | 2,20 | 62,26 | 1,90 | 2,45 | 46,55 | 4,73 | 2,30 | 108,81 | 1,0288 | 10,219 | 0,483 | 425,0 |
| 23. " " | 2,70 | 2,20 | 59,40 | 1,86 | 2,50 | 46,50 | 4,56 | 2,32 | 105,90 | 1,0286 | 10,192 | 0,465 | 425,0 |
| 24. " " | 2,70 | 2,20 | 59,40 | 1,83 | 2,30 | 42,09 | 4,53 | 2,24 | 101,49 | 1,0283 | 9,922 | 0,450 | 425,0 |
| 25. " " | 2,95 | 2,20 | 64,90 | 1,90 | 2,40 | 45,60 | 4,85 | 2,28 | 110,50 | 1,0286 | 10,144 | 0,492 | 420,0 |
| 26. " " | 2,80 | 2,20 | 61,60 | 1,95 | 2,35 | 45,82 | 4,75 | 2,26 | 107,42 | 1,0286 | 10,120 | 0,481 | 420,0 |
| Im Durchschnitt pro Tag | 2,84 | 2,25 | 64,08 | 1,93 | 2,51 | 48,45 | **4,77** | **2,86** | **112,53** | 1,0286 | 10,239 | 0,488 | 424,3 |
| **3. Periode (mit Harnstoff).** | | | | | | | | | | | | | |
| 5. V. 1923 | 3,11 | 2,70 | 83,97 | 2,23 | 2,59 | 65,78 | 5,34 | 2,81 | 149,75 | 1,0288 | 10,831 | 0,578 | 410,0 |
| 6. " " | 3,00 | 2,60 | 78,00 | 2,22 | 2,90 | 64,38 | 5,22 | 2,72 | 142,38 | 1,0288 | 10,823 | 0,565 | 412,0 |
| 7. " " | 3,20 | 2,60 | 83,20 | 2,12 | 2,90 | 61,48 | 5,32 | 2,72 | 144,68 | 1,0288 | 10,823 | 0,576 | 415,0 |
| 8. " " | 3,37 | 2,40 | 80,88 | 2,21 | 2,70 | 59,67 | 5,58 | 2,55 | 140,55 | 1,0286 | 10,468 | 0,584 | 417,5 |
| 9. " " | 3,33 | 2,50 | 83,25 | 2,40 | 2,70 | 64,80 | 5,73 | 2,58 | 148,05 | 1,0288 | 10,555 | 0,605 | 420,0 |
| 10. " " | 2,95 | 2,60 | 76,70 | 2,26 | 3,20 | 72,32 | 5,21 | 2,86 | 149,02 | 1,0288 | 10,891 | 0,567 | 415,0 |
| 11. " " | 2,82 | 2,50 | 75,50 | 2,10 | 3,25 | 68,25 | 4,92 | 2,92 | 143,75 | 1,0288 | 10,963 | 0,539 | 417,5 |
| 12. " " | 2,96 | 2,50 | 74,00 | 2,02 | 2,80 | 56,56 | 4,98 | 2,62 | 130,56 | 1,0288 | 10,603 | 0,528 | 422,0 |
| Im Durchschnitt pro Tag | 3,09 | 2,57 | 79,44 | 2,19 | 2,92 | 64,15 | **5,28** | **2,72** | **148,59** | 1,0288 | 10,754 | 0,568 | 416,2 |

Die tägliche Futterration bestand aus 2,0 kg Trockenkartoffeln, je 1,0 kg Trockenschnitzel, Maisschrot, Haferspelzenmelasse und Wiesenheu, sowie 2,5 kg Haferstrohhäcksel und enthielt 7,059 kg Trockensubstanz, 0,159 kg verdauliches Eiweiß und 3,547 kg Stärkewert, oder, auf 1000 kg Lebendgewicht umgerechnet, 0,374 kg verdauliches Eiweiß und 8,409 kg Stärkewert. Verglichen mit den *Kellner*schen Normen, war also diese Ration, selbst in Hinsicht darauf, daß die Versuchskuh zu Beginn des Versuches nur noch knapp 6 kg Milch pro Tag gab, sehr arm an verdaulichem Eiweiß, indem sie nur ein Drittel der von *O. Kellner* hierfür geforderten Menge enthielt. Der Gehalt an Stärkewert ist dagegen wiederum als durchaus reichlich zu bezeichnen und entspricht vollkommen den üblichen Futternormen.

Wir wollen auch hier wieder zunächst den Einfluß der Harnstoffzufütterung auf Menge und Zusammensetzung der Milch betrachten. Die an den einzelnen Tagen ermolkene Milch und ihre Zusammensetzung ist aus der Tabelle auf der vorhergehenden Seite ersichtlich.

Wie schon ohne weiteres aus den täglichen Durchschnittserträgen hervorgeht, ist durch Weglassung des Harnstoffs in der zweiten Periode die Milchmenge, der prozentische Fettgehalt und die absolut ermolkene Fettmenge ungünstig beeinflußt worden. Es wird dieses noch deutlicher, wenn wir die Durchschnittsergebnisse der einzelnen Perioden einander gegenüberstellen und gleichzeitig aus dem Mittel der ersten und dritten Periode berechnen, welche Milch- und Fettmenge in der zweiten Periode hätte ermolken werden müssen, wenn Harnstoff weiter verfüttert worden wäre.

| | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Trockensubstanzgehalt kg |
|---|---|---|---|---|
| 1. Periode mit Harnstoff . . . . | 5,74 | 2,98 | 169,23 | 0,634 |
| 3. „ „ „ . . . . | 5,28 | 2,72 | 143,59 | 0,568 |
| 2. Periode ohne Harnstoff . . . | 4,77 | 2,36 | 112,53 | 0,488 |
| Berechnet aus 1. u. 3. Periode . | 5,51 | 2,85 | 156,41 | 0,601 |
| Also ohne Harnstoffzufütterung weniger . . . . . . . . . . | 0,74 | 0,49 | 43,88 | 0,113 |

Setzt man die aus der ersten und dritten Periode berechneten Werte gleich 100, so ergeben sich folgende Verhältniszahlen:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 86,5 | 95 | 72 | 81,2 |

Es kann also gar kein Zweifel darüber bestehen, daß unter den hier eingehaltenen Versuchsbedingungen der verfütterte Harnstoff günstig auf Menge und Zusammensetzung der Milch eingewirkt hat.

Wenn wir nun auch die Stickstoffbilanz verfolgen und feststellen wollen, was der Versuchskuh durch die verschiedenen Futtermittel in den einzelnen Perioden an Gesamt- und Eiweiß-N zugeführt worden ist, so ergibt sich folgendes:

| | 1. Periode | | 2. Periode | | 3. Periode | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Gesamt-N g | Eiweiß-N g | Gesamt-N g | Eiweiß-N g | Gesamt-N g | Eiweiß-N g |
| Kartoffelflocken . . . . | 17,63 | 11,26 | 17,53 | 11,20 | 17,53 | 11,20 |
| Trockenschnitzel . . . | 12,33 | 10,72 | 12,28 | 10,67 | 12,28 | 10,67 |
| Maisschrot . . . . . . | 15,39 | 13,99 | 15,33 | 13,94 | 15,33 | 13,94 |
| Wiesenheu . . . . . . | 15,99 | 14,52 | 16,03 | 14,56 | 15,99 | 14,52 |
| Haferstroh . . . . . . | 10,73 | 10,50 | 10,88 | 10,65 | 11,15 | 10,91 |
| Haferspelzenmelasse . . | 9,97 | 5,47 | 10,75 | 5,90 | 10,75 | 5,90 |
| Harnstoff . . . . . . . | 55,57 | — | — | — | 55,57 | — |
| Gesamteinnahme . . . | 137,61 | 66,46 | 82,80 | 66,92 | 138,60 | 67,14 |

Der Mischkot wies in der wasserfreien Substanz folgenden Gehalt an Stickstoff auf:

| | Gesamt-N Proz. | Eiweiß-N Proz. | Pepsin-HCl unlöslicher N Proz. |
|---|---|---|---|
| 1. Periode mit Harnstoff . . . . | 2,440 | 2,164 | 1,742 |
| 2. „ ohne „ . . . . | 1,854 | 1,754 | 1,344 |
| 3. „ mit „ . . . . | 2,386 | 2,175 | 1,692 |

Über den Stickstoffgehalt des Harns und der Milch gibt die nachstehende Tabelle Auskunft.

| Datum | Milch | | | Harn | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Milchmenge kg | N-Gehalt Proz. | N-Menge g | Harnmenge kg | N-Gehalt Proz. | N-Menge g |
| | | | 1. Periode. | | | |
| 3. IV. 1923 . | 5,72 | 0,436 | 24,94 | 7,50 | 0,644 | 48,30 |
| 4. „ „ . | 5,52 | 0,435 | 24,01 | 6,45 | 0,807 | 52,05 |
| 5. „ „ . | 6,15 | 0,431 | 26,50 | 6,95 | 0,823 | 57,19 |
| 6. „ „ . | 6,00 | 0,430 | 25,80 | 8,01 | 0,778 | 62,31 |
| 7. „ „ . | 5,93 | 0,430 | 25,49 | 5,60 | 0,898 | 50,28 |
| 8. „ „ . | 5,82 | 0,417 | 24,27 | 8,61 | 0,836 | 71,87 |
| 9. „ „ . | 5,27 | 0,409 | 21,55 | 5,88 | 0,927 | 54,50 |
| 10. „ „ . | 5,54 | 0,425 | 23,54 | 6,96 | 0,830 | 55,52 |
| Im Durchschnitt pro Tag . . | 5,74 | 0,427 | 24,67 | 6,98 | 0,809 | 56,51 |
| | | | 2. Periode. | | | |
| 19. IV. 1923 . | 4,93 | 0,394 | 19,42 | 7,35 | 0,273 | 20,06 |
| 20. „ „ . | 4,94 | 0,389 | 19,21 | 6,25 | 0,310 | 19,37 |
| 21. „ „ . | 4,92 | 0,389 | 19,13 | 5,90 | 0,318 | 18,76 |
| 22. „ „ . | 4,73 | 0,389 | 18,39 | 7,75 | 0,281 | 21,77 |
| 23. „ „ . | 4,56 | 0,389 | 17,74 | 7,40 | 0,293 | 21,68 |
| 24. „ „ . | 4,53 | 0,386 | 17,48 | 7,45 | 0,326 | 17,76 |
| 25. „ „ . | 4,85 | 0,384 | 18,62 | 7,40 | 0,284 | 21,02 |
| 26. „ „ . | 4,75 | 0,384 | 18,24 | 7,75 | 0,281 | 21,77 |
| Im Durchschnitt pro Tag . . | 4,77 | 0,388 | 18,45 | 6,90 | 0,293 | 20,27 |

| Datum | Milch | | | Harn | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Milchmenge kg | N-Gehalt Proz. | N-Menge g | Harnmenge kg | N-Gehalt Proz. | N-Menge g |
| | | | 3. Periode. | | | |
| 5. V. 1923 . . | 5,34 | 0,417 | 22,26 | 7,15 | 0,814 | 58,20 |
| 6. „ „ . . | 5,22 | 0,417 | 26,76 | 6,35 | 0,907 | 57,59 |
| 7. „ „ . . | 5,32 | 0,414 | 22,02 | 7,65 | 0,535 | 71,52 |
| 8. „ „ . . | 5,58 | 0,418 | 23,32 | 6,15 | 0,885 | 57,96 |
| 9. „ „ . . | 5,73 | 0,415 | 24,35 | 6,35 | 0,885 | 56,19 |
| 10. „ „ . . | 5,21 | 0,418 | 21,77 | 7,35 | 0,759 | 55,78 |
| 11. „ „ . . | 4,91 | 0,418 | 20,56 | 5,25 | 0,885 | 46,46 |
| 12. „ „ . . | 4,98 | 0,417 | 20,76 | 4,55 | 0,920 | 41,86 |
| Im Durchschnitt pro Tag . . | 5,28 | 0,418 | 21,01 | 6,36 | 0,875 | 55,69 |

In der Mischmilch wurden gefunden:

| | Gesamt-N | | Eiweiß-N | |
|---|---|---|---|---|
| | Proz. | g | Proz. | g |
| 1. Periode mit Harnstoff . . . . | 0,428 | 24,67 | 0,396 | 22,73 |
| 2. ,, ohne ,, . . . . | 0,387 | 18,45 | 0,375 | 17,88 |
| 3. ,, mit ,, . . . . | 0,417 | 22,01 | 0,390 | 20,59 |

Auf Grund aller hier wiedergegebenen Daten über N-Einnahmen und -Ausgaben ergibt sich nun folgende N-Bilanz:

| | 1. Periode mit Harnstoff | | 2. Periode ohne Harnstoff | | 3. Periode mit Harnstoff | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Einnahmen:* | | | | | | |
| Im Futter . . | | 137,61 g N | | 82,80 g N | | 138,60 g N |
| *Ausgaben:* | | | | | | |
| Im Kot . . . | 60,44 g N | | 55,78 g N | | 59,74 g N | |
| Im Harn . . . | 56,51 „ „ | | 20,27 „ „ | | 55,69 „ „ | |
| In der Milch . | 24,67 „ „ | | 18,45 „ „ | | 22,01 „ „ | |
| | 141,62 g N | 141,62 g N | 94,50 g N | 94,50 g N | 137,44 g N | 137,44 g N |
| Körperverlust (—) od. Körperansatz (+) | | —4,01 g N | | -11,70 g N | | +1,16 g N |

Zu dem gleichen Resultat muß man naturgemäß auch auf folgende Weise gelangen:

| | 1. Periode g N | 2. Periode g N | 3. Periode g N |
|---|---|---|---|
| Einnahmen im Futter . . . . . . . . . . | 137,61 | 82,80 | 138,60 |
| Ausgeschieden im Kote . . . . . . . . . | 60,44 | 55,78 | 59,74 |
| Verdaut . . . . . . . . . . . . . . . . | 77,17 | 27,02 | 78,86 |
| Ausgeschieden im Harn . . . . . . . . . | 56,51 | 20,27 | 55,69 |
| ,, in der Milch . . . . . . . | 24,67 | 18,45 | 22,01 |
| Verlust (—) oder Gewinn am Körper (+) | — 4,01 | — 11,70 | + 1,16 |

Hiernach war nur in der dritten Periode ein kleiner N-Ansatz zu verzeichnen, während in der ersten und zweiten Periode das Tier noch von seiner Körpersubstanz zuschießen mußte. Ob und wieweit nun der Harnstoff sowie natürlich auch die anderen Amide des Futters an der Erzeugung der stickstoffhaltigen Substanz der Milch beteiligt gewesen sind, läßt sich erst erkennen, wenn man zunächst nur mit der dem Versuchstiere wirklich zur Verfügung gestandenen Eiweißmenge rechnet. Es ergibt sich dann folgendes Bild:

| | 1. Periode mit Harnstoff g N | 2. Periode ohne Harnstoff g N | 3. Periode mit Harnstoff g N |
|---|---|---|---|
| Im Futter | 66,46 | 66,92 | 67,14 |
| Im Kote | 53,61 | 52,74 | 54,46 |
| Verdaut (Differenz) | 12,85 | 14,18 | 12,68 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | — 4,01 | — 11,70 | + 1,16 |
| Für Milch und Erhaltung verfügbar | 16,86 | 25,88 | 11,52 |
| In der Milch | 24,67 | 18,45 | 22,01 |
| Überschuß (+) bzw. Fehlbetrag (—) an N | — 7,81 | + 7,43 | — 10,49 |

An dieser Tatsache ändert auch der Umstand weniger, wenn wir in diese Rechnung nicht die stickstoffhaltige Substanz der Milch überhaupt, sondern nur die in der Milch tatsächlich ermittelte Menge an Eiweiß-N einsetzen. Wir erhalten dann:

| | | | |
|---|---|---|---|
| In der Milch | 22,73 | 17,88 | 20,59 |
| Überschuß (+) bzw. Fehlbetrag (—) an N | — 5,87 | — 8,00 | — 9,07 |

Hieraus geht mit aller Sicherheit hervor, daß der Amid-N des Futters einschließlich des mitverfütterten Harnstoffs an der stickstoffhaltigen Milchsubstanz im allgemeinen wie auch an der Bildung und Erzeugung des Milcheiweißes beteiligt gewesen sein muß. Denn es wurde in der Milch in den beiden Harnstoffperioden sowohl an stickstoffhaltiger Substanz wie auch an Eiweiß-N mehr ausgeschieden, als überhaupt an verdaulichem Eiweiß-N zur Verfügung stand. In der zweiten Periode (ohne Harnstoff) war dieses zwar nicht der Fall, aber selbst unter der Annahme, daß der verdaute Eiweiß-N quantitativ in Milcheiweiß umgewandelt worden wäre, hätten dann für die Lebenserhaltung des rund 425 kg schweren Versuchstieres nur 8 g verdauter Eiweißstickstoff zur Verfügung gestanden, was naturgemäß viel zu wenig wäre. Der Amid-N muß zum mindesten demnach hier an der Lebenserhaltung beteiligt gewesen sein.

Will man jedoch auch hier wieder nach dem Vorschlage von *A. Morgen* die Bestimmung der N-Verdaulichkeit nicht mit Hilfe des Gesamt-N im Kote vornehmen, so muß man zunächst die stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukte des Kotes bestimmen. Wir haben dieses wiederum in der Weise getan, daß wir den in Pepsinsalzsäure löslichen N des Kotes entsprechend dem pepsinunlöslichen Anteil des Stoffwechsel-N um 33 Proz. erhöhten, diese Summe von Gesamt-N des Kotes in Abzug brachten und den dann verbleibenden Rest zur Berechnung der Verdaulichkeit verwandten. Wir erhalten dann:

| | 1. Periode | 2. Periode | 3. Periode |
|---|---|---|---|
| Gesamt-N im Kot | 60,44 | 55,78 | 59,74 |
| Pepsin-HCl unlöslich | 43,17 | 40,54 | 42,38 |
| Pepsin-HCl löslich | 17,27 | 15,24 | 17,36 |
| Zuschlag von 33 Proz. | 5,69 | 5,03 | 5,72 |
| | **22,96** | **20,27** | **23,08** |

Für die Eiweißstickstoffbilanz ergibt sich dann unter Berücksichtigung der Stoffwechselprodukte folgende Aufstellung:

| | 1. Periode | 2. Periode | 3. Periode |
|---|---|---|---|
| Im Futter | 66,46 | 66,92 | 67,14 |
| Im Kot | 53,61 | 52,74 | 54,46 |
| In Pepsin-HCl löslich | 22,96 | 20,27 | 23,08 |
| Unverdaulicher Futterrest | 30,65 | 32,47 | 30,38 |
| Wirklich verdaut | 35,81 | 34,45 | 36,76 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | — 4,01 | — 11,70 | + 1,16 |
| Für Lebenserhaltung und Milch verfügbar | 39,82 | 46,15 | 35,60 |
| In der Milch ausgeschieden | 22,73 | 17,88 | 20,59 |
| Für Lebenderhaltung | 17,09 | 28,27 | 15,01 |

Der Versuchskuh würden hiernach genügende Mengen von Eiweiß-N zur Verfügung gestanden haben, vorausgesetzt freilich immer, daß das Futtereiweiß quantitativ in Milcheiweiß umgewandelt worden ist, und daß die hiernach für die Lebenserhaltung verfügbar gewesenen Mengen an Eiweiß-N tatsächlich hierzu ausgereicht haben. In bezug auf den ersten Fall, d. h. auf eine restlose Überführung von Futtereiweiß in Milcheiweiß, kann die Möglichkeit unter den hier gegebenen Versuchsbedingungen jedenfalls nicht ohne weiteres von der Hand gewiesen werden. Ob jedoch eine Eiweiß-N-Menge von 16 g, im Durchschnitt der beiden Harnstoffperioden entsprechend 100 g verdaulichem Eiweiß, tatsächlich zur Lebenserhaltung ausgereicht haben würden, möchten wir bestreiten, wenn auch schon *Hofmann Bang* diese Menge als gerade noch genügend angibt. Wenn auch in diesem Versuche eine Umwandlung des verfütterten Amid-N in Milcheiweiß — streng genommen — als nicht erwiesen gelten kann, so möchten wir unter Hinweis auf die geringe, zur Verfügung stehende Menge an Eiweiß-N für die Lebenserhaltung doch nicht an dieser Tatsache zweifeln.

Was dann endlich noch den Einfluß der Harnstoffverfütterung auf die Ausnutzung des gesamten Futters anbetrifft, so führen wir zunächst die in den einzelnen Perioden verfütterten Nährstoffmengen an. Die Kotausscheidungen während der eigentlichen Versuchsabschnitte sind aus der Tabelle auf folgender Seite ersichtlich. Die Fäzes selbst wiesen in der Trockensubstanz folgende chemische Zusammensetzung auf:

| | Organische Substanz Proz. | Rohprotein Proz. | N-freie Extraktstoffe Proz. | Rohfett (Ätherextrakt) Proz. | Rohfaser Proz. | Reinasche Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. Periode (mit Harnstoff) | 88,02 | 15,23 | 42,77 | 2,20 | 27,82 | 11,98 |
| 2. „ (ohne „ ) | 88,17 | 11,59 | 41,90 | 2,11 | 32,57 | 11,83 |
| 3. „ (mit „ ) | 87,41 | 14,91 | 42,61 | 2,03 | 27,86 | 12,59 |

| Datum 1923 | 1. Periode Kotmenge frisch kg | Trockensubstanzgehalt Proz. | Trockensubstanzmenge kg | Datum 1923 | 2. Periode Kotmenge frisch kg | Trockensubstanzgehalt Proz. | Trockensubstanzmenge kg | Datum 1923 | 3. Periode Kotmenge frisch kg | Trockensubstanzgehalt Proz. | Trockensubstanzmenge kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3. IV. | 18,00 | 13,73 | 2,473 | 19. IV. | 21,82 | 15,04 | 3,282 | 5. V. | 17,87 | 15,63 | 2,794 |
| 4. „ | 14,87 | 13,99 | 2,081 | 20. „ | 20,60 | 14,59 | 3,007 | 6. „ | 17,00 | 15,06 | 2,560 |
| 5. „ | 17,70 | 13,45 | 2,382 | 21. „ | 18,37 | 14,40 | 3,636 | 7. „ | 16,62 | 15,22 | 2,530 |
| 6. „ | 21,30 | 13,48 | 2,872 | 22. „ | 19,70 | 14,70 | 3,897 | 8. „ | 16,45 | 15,26 | 2,510 |
| 7. „ | 18,02 | 13,75 | 2,477 | 23. „ | 20,37 | 14,93 | 3,042 | 9. „ | 18,12 | 14,93 | 2,705 |
| 8. „ | 18,18 | 13,96 | 2,538 | 24. „ | 19,55 | 15,36 | 3,003 | 10. „ | 19,70 | 13,78 | 2,713 |
| 9. „ | 19,65 | 13,64 | 2,680 | 25. „ | 20,07 | 14,85 | 3,988 | 11. „ | 13,52 | 15,20 | 2,055 |
| 10. „ | 16,25 | 14,28 | 2,322 | 26. „ | 21,20 | 15,20 | 3,223 | 13. „ | 16,90 | 14,54 | 2,455 |
| Durchschnitt | 17,99 | 13,77 | **2,478** | Durchschnitt | 20,12 | 14,88 | **3,009** | Durchschnitt | 17,02 | 14,71 | **2,504** |

Hierbei sind für das Rohprotein die im frischen Mischkote gefundenen Zahlen eingesetzt worden. Die Verdaulichkeit des Gesamtfutters berechnet sich nun wie folgt:

| | Trockensubstanz kg | Organ. Substanz kg | Rohprotein kg | N-freie Extraktstoffe kg | Rohfett (Ätherextrakt) kg | Rohfaser kg |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1. Periode. | | | |
| Kartoffelflocken . . . | 1,731 | 1,661 | 0,110 | 1,517 | 0,005 | 0,028 |
| Maisschrot . . . . . . | 0,874 | 0,854 | 0,092 | 0,704 | 0,036 | 0,021 |
| Trockenschnitzel . . . | 0,855 | 0,819 | 0,077 | 0,582 | 0,003 | 0,156 |
| Haferspelzenmelasse . . | 0,756 | 0,713 | 0,061 | 0,503 | 0,007 | 0,139 |
| Wiesenheu . . . . . . | 0,798 | 0,715 | 0,100 | 0,351 | 0,018 | 0,246 |
| Haferstroh . . . . . . | 1,917 | 1,807 | 0,067 | 0,896 | 0,010 | 0,834 |
| Gesamtverzehr . . . . | 6,931 | 6,569 | 0,507 | 4,553 | 0,079 | 1,424 |
| Ausgeschieden im Kot . | 2,478 | 2,180 | 0,377 | 1,060 | 0,054 | 0,689 |
| Verdaut . . . . . . . . | 4,453 | 4,389 | 0,170 | 3,493 | 0,025 | 0,735 |
| | | | 2. Periode. | | | |
| Kartoffelflocken . . . | 1,721 | 1,651 | 0,109 | 1,508 | 0,004 | 0,028 |
| Maisschrot . . . . . . | 0,871 | 0,851 | 0,091 | 0,701 | 0,036 | 0,021 |
| Trockenschnitzel . . . | 0,851 | 0,815 | 0,076 | 0,579 | 0,003 | 0,156 |
| Haferspelzenmelasse . . | 0,825 | 0,768 | 0,067 | 0,543 | 0,008 | 0,150 |
| Wiesenheu . . . . . . | 0,800 | 0,717 | 0,100 | 0,352 | 0,018 | 0,247 |
| Haferstroh . . . . . . | 1,944 | 1,833 | 0,068 | 0,909 | 0,010 | 0,845 |
| Gesamtverzehr . . . . | 7,012 | 6,635 | 0,511 | 4,592 | 0,079 | 1,447 |
| Ausgeschieden im Kot . | 3,009 | 2,653 | 0,349 | 1,261 | 0,063 | 0,980 |
| Verdaut . . . . . . . . | 4,003 | 3,982 | 0,162 | 3,331 | 0,016 | 0,467 |
| | | | 3. Periode. | | | |
| Kartoffelflocken . . . | 1,721 | 1,651 | 0,109 | 1,508 | 0,004 | 0,028 |
| Maisschrot . . . . . . | 0,871 | 0,851 | 0,091 | 0,701 | 0,036 | 0,026 |
| Trockenschnitzel . . . | 0,851 | 0,815 | 0,076 | 0,579 | 0,003 | 0,156 |
| Haferspelzenmelasse . . | 0,825 | 0,768 | 0,067 | 0,543 | 0,008 | 0,150 |
| Wiesenheu . . . . . . | 0,798 | 0,715 | 0,100 | 0,351 | 0,018 | 0,246 |
| Haferstroh . . . . . . | 1,992 | 1,878 | 0,069 | 0,931 | 0,010 | 0,866 |
| Gesamtverzehr . . . . | 7,058 | 6,678 | 0,512 | 4,613 | 0,079 | 1,467 |
| Ausgeschieden im Kot . | 2,504 | 2,188 | 0,373 | 1,117 | 0,051 | 0,697 |
| Verdaut . . . . . . . . | 4,554 | 4,490 | 0,139 | 3,496 | 0,028 | 0,770 |

Es wurden demnach in Prozenten der einzelnen Bestandteile verdaut:

| | Mit Harnstoff | | | Ohne Harnstoff | Bei Harnstoffverfütterung mehr (+) oder weniger (−) |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1. Periode | 3. Periode | im Mittel 1./3. | 2. Periode | |
| Organische Substanz | 66,8 | 67,2 | **67,0** | 60,1 | — 6,9 |
| Rohprotein . . . . . | 25,6 | 27,1 | **26,8** | 31,7 | + 4,9 |
| N-freie Extraktstoffe | 76,7 | 76,9 | **76,8** | 72,5 | — 4,3 |
| Rohfett (Ätherextrakt) . | 31,6 | 35,4 | **33,5** | 20,2 | — 13,3 |
| Rohfaser . . . . . . | 51,6 | 52,5 | **52,0** | 32,3 | — 19,7 |

Mit Ausnahme des Rohproteins ist also in der Periode ohne Harnstoff eine zum Teil sehr erheblich geringere Verdaulichkeit der einzelnen Nährstoffgruppen vorhanden. Diese Verdauungsdepression tritt stark hervor beim Rohfett und dann ganz besonders bei der Rohfaser. Namentlich der letztere Umstand spricht dafür, daß unter den hier gegebenen Verhältnissen durch die Harnstoffzufütterung die Bakterienflora eine wesentliche Anregung und Vermehrung erfahren haben muß, was dann wiederum in einer gesteigerten Vergärung der Cellulose zum Ausdruck kommt. Daß aber die Verdaulichkeit des Rohproteins in der Periode ohne Harnstoff eine bessere als in den Perioden ist, in welchen Harnstoff zugefüttert wurde, ist eine Täuschung. In obigen Futterrationen haben wir den Harnstoff bzw. dessen Stickstoffgehalt überhaupt nicht berücksichtigt. Setzen wir nur für alle Futtermittel den Stickstoff ein bzw. rechnen wir den letzteren des Harnstoffs durch Multiplikation mit 6,25 auch auf Rohprotein um und nehmen der Einfachheit halber Futter minus Kot als verdaut an, so erhalten wir:

| | 1. Periode | | 2. Periode | | 3. Periode | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | N | Protein | N | Protein | N | Protein |
| Eingenommen | 137,61 | 860,06 | 82,80 | 517,50 | 138,60 | 866,25 |
| Ausgeschieden | 60,44 | 377,75 | 55,78 | 348,63 | 59,74 | 373,38 |
| Verdaut in g . | 77,17 | 482,31 | 27,02 | 168,87 | 78,86 | 492,87 |
| „ in Proz. | **56,1** | **56,0** | **32,6** | **32,7** | **56,9** | **56,9** |

Die gesamte stickstoffhaltige Substanz einschließlich der im Harnstoff zugeführten ist in den beiden Harnstoffperioden sehr gleichmäßig zur Ausnutzung gelangt. Daß ferner in diesen beiden Perioden der Verdauungskoeffizient für die stickstoffhaltige Substanz, 56,5 Proz. gegenüber 32,6 Proz. in der harnstofffreien Periode, so viel höher liegt, dürfte ein weiterer Beweis dafür sein, daß der Stickstoff des Harnstoffs unter den hier eingehaltenen Versuchsbedingungen nicht ohne weiteres wieder zur Ausscheidung gelangt sein kann, sondern unbedingt in den Stoffwechsel mit einbezogen worden sein muß. Es dürfte dies auch noch aus anderen Erwägungen heraus folgern. Wir haben bereits früher[1]) durch Versuche an Hammeln ebenso wie in der hier vorliegenden ersten Versuchsreihe gezeigt, daß der Harnstoff bei Verfütterung zu einer nur oder doch ganz vorwiegend aus Rauhfutter bestehenden Ration fast immer quantitativ im Harn wieder ausgeschieden wird. In dem vorliegenden Versuche schied die Versuchskuh F in den beiden Harnstoffperioden durchschnittlich täglich 56,51 bzw. 55,69 g, im

[1]) Diese Zeitschr. 138, 461, 1923.

Mittel beider Perioden also 56,10 g N aus. In der Periode ohne Harnstoff betrug dagegen die tägliche durchschnittliche N-Ausscheidung nur 20,27 g. Mit der täglichen Harnstoffration von 120 g wurden dagegen 55,57 g N zugeführt. Wenn nun die Versuchskuh diesen Stickstoff wieder annähernd quantitativ im Harn ausgeschieden hatte, so mußte die N-Ausscheidung im Harn in den beiden Perioden mit Harnstoff unter der gleichzeitigen Annahme, daß in diesen Perioden die gleiche aus dem Grundfutter stammende N-Menge wie ohne Harnstoffverfütterung ausgeschieden wurde, 75,84 g N gegenüber 56,10 g wirklich ausgeschiedenem Stickstoff, betragen. Es müßten hiernach 19,74 g N vom Harnstoff im Körper retiniert worden sein.

Wir dürfen also auch aus den Ergebnissen dieses Versuches folgern, daß die Zufütterung von Harnstoff zu einem eiweißarmen, aber kohlehydratreichen Futter günstig auf Menge und Zusammensetzung der Milch gewirkt und auch die Verdaulichkeit aller Nährstoffgruppen des Grundfutters in günstiger Weise beeinflußt hat. Das Lebendgewicht der Versuchskuh hat während des Versuches wesentliche Schwankungen nicht aufzuweisen. Es betrug im Durchschnitt der täglichen Wägungen der einzelnen Perioden 425,30, 424,50 und 416,20 kg. Diese Gewichtszahlen bekommen außerdem aber noch ein etwas anderes Bild, wenn man die Durchschnittsgewichte mit denen zu Anfang und Schluß einer jeden Periode vergleicht. Die Versuchskuh wog:

| | Im Durchschnitt der Periode kg | Am Anfang der Periode kg | Am Ende der Periode kg | Zunahme (+) bzw. Abnahme (—) während der Periode kg |
|---|---|---|---|---|
| I. Periode . . | 425,30 | 430,00 | 425,00 | — 5,00 |
| II. „ . . | 424,30 | 427,50 | 420,00 | — 7,50 |
| III. „ . . | 416,20 | 410,00 | 422,00 | +12,00 |

Eine Gewichtsabnahme ist also zu verzeichnen in der ersten Periode, in welcher das Versuchstier nach der Gesamtstickstoffbilanz auch noch von seinem Körper zuschießen mußte. Letzteres war in der zweiten Periode (ohne Harnstoff) in noch verstärkterem Maße der Fall, dem auch ein noch größerer Unterschied in dem Lebendgewicht zu Beginn und am Schluß der Periode entspricht. In der dritten Periode dagegen, in welcher auch ein geringer N-Ansatz stattgefunden hat, tritt wieder eine ständige und ziemlich regelmäßige Zunahme im Lebendgewicht ein.

Aus der vorliegenden Versuchsreihe geht also hervor, daß

1. *bei allen drei Versuchskühen die Harnstoffzulage Menge und Zusammensetzung der Milch sowie die Verdaulichkeit des gesamten Futters günstig beeinflußt hat;*

2. *auf Grund der N-Bilanzen zum mindesten bei zwei von drei Versuchskühen der Amid-N für Milchbildung bzw. Lebenserhaltung Verwendung gefunden haben muß, und auch bei der dritten Kuh erscheint diese Annahme als durchaus berechtigt, wenn schon der exakte Beweis — streng genommen — nicht erbracht werden konnte.*

### Dritte Versuchsreihe.

Dieser Versuch sollte feststellen, ob der Proteinersatz eines eiweißreichen Kraftfuttermittels durch eine im Stickstoffgehalt gleiche Menge

Harnstoff bei demselben Stärkewert der Futterration einen Einfluß auf Menge und Zusammensetzung der Milch ausübt. Unter den gleichen Verhältnissen sollte auch die Stickstoffbilanz ermittelt werden. Als Versuchstiere dienten zwei Kühe, bezeichnet als A und B, im ungefähren Alter von 9 Jahren. Die schwarzbunte Kuh A hatte am 4. Juli und die rotbunte Kuh B am 23. August 1921 gekalbt. Beide Versuchstiere erhielten als Grundfutter Wiesenheu, Haferstroh, Zuckerschnitzel (*Steffen*sche) und Kartoffelflocken. Kuh A zur Ergänzung der notwendigen Eiweißmenge noch Kokoskuchen, Kuh B Erdnußkuchenmehl. Als Vergleichsfutter wurde Trockenhefe gewählt, welche in der ersten und dritten Periode verabfolgt wurde. In der zweiten Periode wurde die Trockenhefe nach ihrem Stickstoffgehalt durch eine entsprechende Menge Harnstoff ersetzt und so viel reine Kartoffelstärke zugefüttert, daß der Stärkewert in allen drei Perioden der gleiche war.

Die chemische Zusammensetzung der Futtermittel war in Prozenten der einzelnen Bestandteile und berechnet auf Trockensubstanz folgende:

| | Rohprotein | Gesamt-N | Reineiweiß | Eiweiß-N | N-freie Extraktstoffe | Rohfett (Ätherextrakt) | Rohfaser |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Wiesenheu . . | 13,42 | 2,14 | 11,49 | 1,85 | 49,07 | 2,59 | 25,57 |
| Haferstroh . . | 2,64 | 0,42 | 2,18 | 0,35 | 46,18 | 1,59 | 42,87 |
| Zuckerschnitzel | 6,39 | 1,02 | 5,65 | 0,91 | 77,87 | 0,45 | 11,24 |
| Kartoffelflocken | 7,11 | 1,14 | 4,31 | 0,88 | 87,44 | 0,39 | 1,33 |
| Trockenhefe . | 57,97 | 9,28 | 46,12 | 7,38 | 36,31 | 1,40 | 0,19 |
| Kokoskuchen . | 22,93 | 3,67 | 22,22 | 3,55 | 48,89 | 7,33 | 13,84 |
| Erdnußmehl . | 51,40 | 8,22 | 49,91 | 7,99 | 28,86 | 10,96 | 3,69 |

Der verfütterte Harnstoff wies einen Stickstoffgehalt von 46,20 Proz. auf. An anorganischen Stoffen wurden die gleichen Mengen wie in den vorhergehenden Versuchsreihen verabfolgt. Die Futterrationen selbst setzen sich wie folgt zusammen:

| | Wiesenheu kg | Haferstrohhäcksel kg | Zuckerschnitzel kg | Kartoffelflocken kg | Kokoskuchen kg | Erdnußmehl kg | Trockenhefe kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kuh A . . . | 1,5 | 1,5 | 2,5 | 2,5 | 1,5 | — | 1,0 |
| „ B . . . | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 2,0 | — | 1,0 | 1,13 |

Hierin waren enthalten:

| | Verdauliches Eiweiß kg | Verdauliches Fett kg | Stärkewert kg |
|---|---|---|---|
| Bei Kuh A . . . . . . . . . . | 0,74 | 0,15 | 5,86 |
| „ „ B . . . . . . . . . . | 0,94 | 0,13 | 4,69 |

Wie oben dargelegt, ist die Möglichkeit eines Ersatzes von Eiweiß durch Harnstoff an das Vorhandensein genügender Mengen leicht löslicher Kohlehydrate geknüpft. Indem wir hiervon Kuh B gegenüber Kuh A wesentlich weniger gaben, hofften wir, daß dieses eventuell in der Harnstoffperiode zum Ausdruck kommen würde.

In den folgenden Tabellen sind die bei jedem einzelnen Melken ermittelten Milchmengen und Fettprozente zusammengestellt und gleich-

Kuh A. 1. Periode: Grundfutter + *Trockenhefe*.

| Datum | Lebendgewicht kg | Abendmilch | | | Morgenmilch | | | Tagesgemelke | | | Tagesmilch | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Spez. Gewicht bei 15° C | Trockensubstanz Proz. | Stickstoffgehalt g | Stickstoffmenge Proz. |
| 30. VIII. 1921 | 470,0 | 2,71 | 4,15 | 112,46 | 3,71 | 2,20 | 81,62 | 6,42 | 3,02 | 194,08 | 1,0306 | 11,51 | 0,48 | 31,073 |
| 31. VIII. | 472,5 | 2,75 | 3,70 | 101,75 | 4,05 | 2,87 | 116,11 | 6,80 | 3,20 | 207,86 | 1,0304 | 11,70 | 0,48 | 32,504 |
| 1. IX. | 472,5 | 2,82 | 4,32 | 121,82 | 3,73 | 2,42 | 90,27 | 6,55 | 3,24 | 212,09 | 1,0301 | 11,67 | 0,48 | 31,178 |
| 2. IX. | 478,0 | 2,87 | 4,92 | 141,20 | 3,60 | 2,40 | 86,40 | 6,47 | 3,52 | 227,60 | 1,0298 | 11,93 | 0,48 | 30,791 |
| 3. IX. | 478,0 | 2,72 | 4,00 | 108,80 | 4,02 | 2,83 | 113,77 | 6,74 | 3,30 | 222,57 | 1,0306 | 11,87 | 0,49 | 33,100 |
| 4. IX. | 480,0 | 2,40 | 4,27 | 102,48 | 3,37 | 1,78 | 59,99 | 5,77 | 2,82 | 162,47 | 1,0306 | 11,29 | 0,49 | 28,406 |
| 5. IX. | 475,0 | 2,65 | 4,67 | 123,75 | 3,30 | 2,42 | 79,86 | 5,95 | 3,42 | 203,61 | 1,0305 | 11,98 | 0,49 | 29,042 |
| 6. IX. | 482,0 | 2,89 | 4,50 | 132,94 | 3,40 | 3,17 | 107,78 | 6,29 | 3,83 | 240,72 | 1,0297 | 12,28 | 0,48 | 30,450 |
| 7. IX. | 485,0 | 2,35 | 3,97 | 93,30 | 3,10 | 2,38 | 73,78 | 5,45 | 3,07 | 167,08 | 1,0313 | 11,76 | 0,49 | 26,776 |
| 8. IX. | 484,0 | 2,52 | 4,25 | 107,35 | 3,52 | 2,87 | 101,02 | 6,04 | 3,45 | 208,37 | 1,0307 | 12,07 | 0,49 | 29,711 |
| Im Mittel . . | **477,7** | 2,668 | 4,272 | 114,58 | 3,58 | 2,53 | 91,06 | **6,248** | **3,29** | **205,64** | **1,0304** | 11,81 | **0,485** | **30,018** |

Kuh A. 2. Periode: Grundfutter + *Harnstoff*.

| Datum | Lebendgewicht kg | Abendmilch | | | Morgenmilch | | | Tagesgemelke | | | Tagesmilch | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Spez. Gewicht bei 15° C | Trockensubstanz Proz. | Stickstoffgehalt g | Stickstoffmenge Proz. |
| 19. IX. 1921 | 475,0 | 2,30 | 4,70 | 108,10 | 2,91 | 2,45 | 71,29 | 5,21 | 3,44 | 179,39 | 1,0312 | 12,19 | 0,51 | 26,456 |
| 20. IX. | 478,0 | 2,50 | 4,73 | 118,25 | 2,92 | 2,35 | 68,62 | 5,30 | 3,53 | 186,86 | 1,0314 | 12,35 | 0,51 | 26,892 |
| 21. IX. | 476,0 | 2,75 | 4,80 | 132,00 | 3,20 | 3,25 | 104,00 | 5,45 | 4,33 | 236,00 | 1,0311 | 13,23 | 0,51 | 27,904 |
| 22. IX. | 472,0 | 2,20 | 3,78 | 83,16 | 3,65 | 3,70 | 135,05 | 5,85 | 3,73 | 218,21 | 1,0308 | 12,44 | 0,52 | 30,350 |
| 23. IX. | 477,0 | 2,12 | 3,80 | 80,56 | 3,35 | 3,03 | 101,51 | 5,47 | 3,33 | 182,07 | 1,0306 | 11,91 | 0,50 | 27,416 |
| 24. IX. | 470,0 | 2,52 | 4,85 | 122,22 | 2,90 | 2,30 | 66,70 | 5,42 | 3,49 | 188,92 | 1,0312 | 12,23 | 0,51 | 27,837 |
| 25. IX. | 480,0 | 2,65 | 4,65 | 123,22 | 2,60 | 1,75 | 45,50 | 5,25 | 3,21 | 168,72 | 1,0316 | 12,01 | 0,52 | 27,038 |
| 26. IX. | 479,0 | 2,80 | 5,00 | 140,00 | 3,40 | 4,05 | 137,70 | 6,20 | 4,48 | 277,70 | 1,0300 | 13,14 | 0,51 | 31,614 |
| 27. IX. | 477,0 | 2,25 | 4,40 | 99,00 | 3,10 | 3,10 | 96,10 | 5,35 | 3,65 | 195,10 | 1,0316 | 12,54 | 0,52 | 27,809 |
| 28. IX. | 477,0 | 2,10 | 4,05 | 85,05 | 3,20 | 3,25 | 104,00 | 5,30 | 3,57 | 189,05 | 1,0317 | 12,46 | 0,52 | 27,613 |
| Im Mittel . . | **476,1** | 2,419 | 4,47 | 109,16 | 3,123 | 2,92 | 93,05 | **5,480** | **3,68** | **202,20** | **1,0311** | **12,45** | **0,51** | **28,098** |

Kuh A. 3. Periode: Grundfutter + *Trockenhefe.*

| Datum | Lebendgewicht kg | Abendmilch: Milchmenge kg | Abendmilch: Fettgehalt Proz. | Abendmilch: Fettmenge g | Morgenmilch: Milchmenge kg | Morgenmilch: Fettgehalt Proz. | Morgenmilch: Fettmenge g | Tagesgemelke: Milchmenge kg | Tagesgemelke: Fettgehalt Proz. | Tagesgemelke: Fettmenge g | Tagesmilch: Spez. Gewicht bei 15° C | Tagesmilch: Trockensubstanz Proz. | Tagesmilch: Stickstoffgehalt Proz. | Tagesmilch: Stickstoffmenge g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9. X. 1921 | 490,0 | 2,20 | 5,45 | 119,90 | 2,85 | 2,88 | 82,08 | 5,05 | 4,00 | 201,98 | 1,0317 | 12,98 | 0,52 | 26,462 |
| 10. X. | 490,0 | 2,15 | 4,80 | 103,20 | 3,19 | 3,78 | 120,58 | 5,34 | 4,19 | 223,78 | 1,0312 | 13,10 | 0,52 | 27,928 |
| 11. X. | 490,0 | 1,80 | 4,18 | 75,24 | 3,18 | 2,95 | 93,81 | 4,98 | 3,39 | 169,05 | 1,0313 | 12,16 | 0,53 | 26,245 |
| 12. X. | 492,5 | 1,80 | 3,80 | 68,40 | 3,10 | 2,67 | 82,77 | 4,90 | 3,09 | 151,17 | 1,0307 | 11,65 | 0,52 | 25,480 |
| 13. X. | 505,0 | 2,17 | 5,08 | 110,24 | 3,15 | 3,05 | 96,08 | 5,32 | 3,88 | 206,32 | 1,0309 | 12,64 | 0,53 | 27,938 |
| 14. X. | 501,0 | 1,80 | 4,78 | 86,04 | 3,20 | 3,48 | 111,36 | 5,00 | 3,95 | 197,40 | 1,0312 | 12,80 | 0,53 | 26,500 |
| 15. X. | 492,5 | 1,80 | 4,68 | 84,24 | 2,85 | 2,30 | 65,55 | 4,65 | 3,22 | 149,79 | 1,0321 | 12,65 | 0,54 | 25,017 |
| 16. X. | 492,5 | 1,85 | 4,77 | 88,43 | 3,15 | 3,40 | 107,10 | 5,00 | 3,91 | 195,53 | 1,0313 | 12,77 | 0,53 | 26,500 |
| 17. X. | 495,0 | 1,95 | 4,62 | 90,09 | 3,10 | 3,00 | 93,00 | 5,05 | 3,63 | 183,09 | 1,0309 | 12,34 | 0,52 | 26,210 |
| 18. X. | 500,0 | 1,90 | 4,23 | 80,37 | 3,20 | 2,42 | 77,44 | 5,10 | 3,09 | 157,81 | 1,0316 | 11,78 | 0,53 | 26,795 |
| Im Mittel . . | **494,9** | 1,942 | 4,64 | 90,62 | 3,097 | 3,00 | 92,98 | **5,039** | **3,64** | **183,59** | **1,0313** | **12,44** | **0,527** | **26,512** |

Kuh B. 1. Periode: Grundfutter + *Trockenhefe.*

| Datum | Lebendgewicht kg | Abendmilch: Milchmenge kg | Abendmilch: Fettgehalt Proz. | Abendmilch: Fettmenge g | Morgenmilch: Milchmenge kg | Morgenmilch: Fettgehalt Proz. | Morgenmilch: Fettmenge g | Tagesgemelke: Milchmenge kg | Tagesgemelke: Fettgehalt Proz. | Tagesgemelke: Fettmenge g | Tagesmilch: Spez. Gewicht bei 15° C | Tagesmilch: Trockensubstanz Proz. | Tagesmilch: Stickstoffgehalt Proz. | Tagesmilch: Stickstoffmenge g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 19. IX. 1921 | 457,0 | 2,63 | 3,65 | 96,00 | 4,30 | 3,25 | 139,75 | 6,93 | 3,40 | 235,75 | 1,0304 | 11,94 | 0,49 | 34,096 |
| 20. IX. | 453,0 | 2,80 | 3,83 | 107,24 | 4,22 | 2,73 | 115,21 | 7,02 | 3,17 | 222,45 | 1,0305 | 11,72 | 0,49 | 34,047 |
| 21. IX. | 452,0 | 2,70 | 3,36 | 90,72 | 4,20 | 3,03 | 127,26 | 6,90 | 3,16 | 267,98 | 1,0306 | 11,70 | 0,49 | 33,831 |
| 22. IX. | 452,0 | 2,90 | 3,63 | 105,27 | 4,40 | 2,78 | 122,32 | 7,30 | 3,12 | 227,59 | 1,0306 | 11,65 | 0,48 | 34,894 |
| 23. IX. | 451,0 | 3,00 | 3,62 | 108,60 | 4,55 | 3,08 | 140,14 | 7,55 | 3,29 | 248,74 | 1,0300 | 11,71 | 0,47 | 35,379 |
| 24. IX. | 451,0 | 3,17 | 3,90 | 126,63 | 4,40 | 3,00 | 132,00 | 7,57 | 3,42 | 258,63 | 1,0298 | 11,81 | 0,46 | 35,185 |
| 25. IX. | 450,0 | 2,70 | 3,48 | 93,96 | 4,30 | 3,05 | 131,15 | 7,00 | 3,22 | 225,11 | 1,0308 | 11,82 | 0,46 | 32,340 |
| 26. IX. | 451,0 | 3,00 | 3,40 | 102,00 | 4,25 | 2,85 | 121,13 | 7,25 | 3,08 | 223,13 | 1,0313 | 11,78 | 0,48 | 34,655 |
| 27. IX. | 450,0 | 2,65 | 3,68 | 97,52 | 4,55 | 2,75 | 125,13 | 7,20 | 3,09 | 222,65 | 1,0308 | 11,67 | 0,47 | 33,984 |
| 28. IX. | 450,0 | 2,80 | 3,23 | 90,44 | 4,15 | 2,78 | 115,37 | 6,95 | 2,96 | 205,81 | 1,0316 | 11,71 | 0,48 | 33,430 |
| Im Mittel . . | **451,7** | 2,835 | 3,58 | 101,84 | 4,332 | 2,93 | 126,95 | **7,167** | **3,19** | **228,78** | **1,0306** | **11,75** | **0,477** | **34,184** |

Kuh B. 2. Periode: Grundfutter + *Harnstoff.*

| Datum | Lebendgewicht | Abendmilch | | | Morgenmilch | | | Tagesgemelke | | | Tagesmilch | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | kg | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Spez. Gewicht bei 15° C | Trockensubstanz Proz. | Stickstoffgehalt Proz. | Stickstoffmenge g |
| 9. X. 1921 | 450,0 | 2,48 | 4,05 | 100,44 | 3,50 | 3,12 | 109,20 | 5,98 | 3,51 | 209,64 | 1,0305 | 12,09 | 0,44 | 26,575 |
| 10. X. | 450,0 | 2,20 | 3,65 | 80,30 | 3,50 | 2,80 | 98,00 | 5,70 | 3,13 | 178,30 | 1,0302 | 11,57 | 0,44 | 24,966 |
| 11. X. | 442,5 | 2,20 | 3,53 | 77,66 | 3,55 | 2,70 | 95,85 | 5,75 | 3,02 | 173,51 | 1,0300 | 11,38 | 0,44 | 25,473 |
| 12. X. | 442,5 | 2,20 | 3,57 | 78,54 | 3,55 | 3,00 | 106,50 | 5,75 | 3,22 | 185,04 | 1,0298 | 11,57 | 0,44 | 25,243 |
| 13. X. | 441,0 | 2,30 | 3,80 | 87,40 | 3,71 | 3,03 | 112,41 | 6,01 | 3,32 | 199,81 | 1,0303 | 11,81 | 0,44 | 26,444 |
| 14. X. | 445,0 | 2,05 | 3,58 | 73,39 | 3,70 | 3,00 | 111,00 | 5,75 | 3,21 | 184,39 | 1,0301 | 11,65 | 0,44 | 25,185 |
| 15. X. | 440,0 | 2,22 | 3,65 | 81,03 | 3,80 | 3,00 | 114,00 | 6,02 | 3,24 | 195,03 | 1,0302 | 11,70 | 0,45 | 27,210 |
| 16. X. | 442,5 | 2,00 | 3,43 | 68,60 | 3,65 | 2,83 | 103,30 | 5,65 | 3,04 | 171,90 | 1,0313 | 11,73 | 0,46 | 25,764 |
| 17. X. | 440,0 | 2,00 | 3,50 | 75,00 | 3,45 | 3,08 | 106,26 | 5,45 | 3,33 | 181,26 | 1,0309 | 11,98 | 0,46 | 25,016 |
| 18. X. | 441,0 | 2,00 | 3,48 | 69,60 | 3,65 | 2,95 | 107,68 | 5,65 | 3,14 | 177,28 | 1,0312 | 11,83 | 0,46 | 25,917 |
| Im Mittel . . | 443,5 | 2,165 | 3,62 | 79,20 | 3,606 | 2,95 | 106,52 | 5,781 | 3,22 | 185,62 | 1,0305 | 11,73 | 0,447 | 25,779 |

Kuh B. 3. Periode: Grundfutter + *Trockenhefe.*

| Datum | Lebendgewicht kg | Abendmilch Milchmenge kg | Abendmilch Fettgehalt Proz. | Abendmilch Fettmenge g | Morgenmilch Milchmenge kg | Morgenmilch Fettgehalt Proz. | Morgenmilch Fettmenge g | Tagesgemelke Milchmenge kg | Tagesgemelke Fettgehalt Proz. | Tagesgemelke Fettmenge g | Spez. Gewicht bei 15° C | Trockensubstanz Proz. | Stickstoffgehalt Proz. | Stickstoffmenge g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 29. X. 1921 | 445,0 | 2,35 | 3,78 | 88,83 | 3,85 | 3,18 | 122,43 | 6,20 | 3,41 | 211,26 | 1,0312 | 12,15 | 0,46 | 28,210 |
| 30. X. | 447,0 | 1,80 | 3,57 | 64,26 | 4,00 | 2,85 | 114,00 | 5,80 | 3,07 | 178,26 | 1,0311 | 11,71 | 0,47 | 27,202 |
| 31. X. | 450,0 | 2,25 | 3,55 | 79,88 | 3,80 | 3,38 | 128,44 | 6,05 | 3,44 | 208,32 | 1,0305 | 11,77 | 0,46 | 28,133 |
| 1. XI. | 450,0 | 2,40 | 4,11 | 98,64 | 3,85 | 3,13 | 120,51 | 6,25 | 3,51 | 219,15 | 1,0308 | 12,17 | 0,47 | 29,250 |
| 2. XI. | 446,0 | 2,15 | 3,98 | 85,57 | 3,70 | 3,20 | 118,40 | 5,85 | 3,49 | 203,97 | 1,0310 | 12,20 | 0,46 | 26,987 |
| 3. XI. | 450,5 | 2,15 | 3,78 | 81,27 | 3,70 | 3,15 | 116,55 | 5,85 | 3,38 | 197,82 | 1,0310 | 12,07 | 0,48 | 27,905 |
| 4. XI. | 451,0 | 2,10 | 3,40 | 71,40 | 3,70 | 3,28 | 121,36 | 5,80 | 3,32 | 192,76 | 1,0314 | 1[illegible],09 | 0,49 | 28,472 |
| 5. XI. | 452,5 | 2,15 | 3,88 | 83,42 | 3,75 | 3,30 | 120,00 | 5,90 | 3,45 | 203,42 | 1,0316 | 12,30 | 0,48 | 28,379 |
| 6. XI. | 450,0 | 2,18 | 3,47 | 75,65 | 3,70 | 3,10 | 114,70 | 5,88 | 3,24 | 190,35 | 1,0312 | 11,92 | 0,47 | 27,584 |
| 7. XI. | 452,5 | 2,30 | 3,70 | 81,40 | 3,65 | 3,10 | 113,15 | 5,85 | 3,33 | 194,55 | 1,0315 | 12,13 | 0,47 | 27,448 |
| Im Mittel . . | 449,5 | 2,173 | 3,72 | 81,24 | 3,770 | 3,16 | 118,95 | 5,943 | 3,36 | 200,00 | 1,0311 | 12,05 | 0,47 | 27,960 |

zeitig die von jeder Kuh gelieferten Milch- und absoluten Fettmengen, wie sie sich aus den einzelnen Tagesgemelken berechnen. Ferner sind in den vorhergehenden Tabellen enthalten das spezifische Gewicht, die Trockensubstanz der Milch und deren Gehalt an Stickstoff, sowie die täglich in der Milch ausgeschiedene Stickstoffmenge.

Was nun zunächst den Einfluß eines Ersatzes der Trockenhefe durch eine dem gleichen Stickstoffgehalt nach entsprechende Menge Harnstoff zuzüglich der Beifütterung von reinem Stärkemehl zur Ausgleichung des Stärkewertes auf Menge und Zusammensetzung der Milch anbetrifft, so ergibt sich aus den Versuchen folgendes:

| | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Trockensubstanzmenge g | Eiweißgehalt Proz. | Eiweißmenge g |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Kuh A.** | | | | | | |
| 1. Periode | 6,248 | 3,29 | 205,64 | 737,89 | 2,91 | 181,82 |
| 3. „ | 5,039 | 3,64 | 183,59 | 626,85 | 3,16 | 159,23 |
| Im Mittel | 5,644 | 3,47 | 194,62 | 682,37 | 3,03 | 170,53 |
| 2. Periode (Harnstoff) | 5,480 | 3,68 | 202,20 | 682,26 | 3,06 | 167,69 |
| Mithin mehr (+) oder weniger (—) durch d. Harnstoffverfütterung | -0,164 | +0,21 | +7,58 | +0,11 | —0,03 | — 2,84 |
| **Kuh B.** | | | | | | |
| 1. Periode | 7,167 | 3,19 | 228,78 | 842,12 | 2,86 | 204,98 |
| 3. „ | 5,943 | 3,36 | 200,00 | 716,13 | 2,82 | 167,59 |
| Im Mittel | 6,555 | 3,28 | 214,39 | 779,13 | 2,84 | 186,29 |
| 2. Periode (Harnstoff) | 5,781 | 3,22 | 185,62 | 678,11 | 2,68 | 154,93 |
| Mithin mehr (+) oder weniger (—) durch d. Harnstoffverfütterung | -0,774 | —0,06 | -28,77 | -101,02 | —0,16 | -31,36 |

Es ist zu bemerken, daß hier wie früher der Eiweißgehalt der Milch durch Multiplikation des gefundenen Stickstoffs mit dem Faktor 6 ermittelt wurde. Hierbei wurde von der Voraussetzung ausgegangen, daß das Casein 90 Proz. von der Summe der Eiweißkörper ausmacht, Lactoglobulin dagegen nur in Spuren vorhanden ist und demgemäß vernachlässigt werden kann. Weiterhin ist hierbei vorausgesetzt, daß das Casein 15,66, das Albumin 15,77 Proz. Stickstoff enthält, und daß endlich 95 Proz. des Gesamt-N auf Eiweiß-N entfallen.

Betrachten wir zunächst die mit Kuh A erzielten Ergebnisse, deren Futterration den *Kellner*schen Normen in bezug auf das verdauliche Eiweiß entsprach, während an Stärkewerten immerhin 0,86 kg mehr verfüttert wurden, so erscheint hier der Ersatz der Trockenhefe durch eine im Stickstoffgehalt gleiche Menge Harnstoff ohne Einfluß auf Menge und Zusammensetzung der Milch gewesen zu sein. Der Erhöhung des prozentischen Fettgehaltes um 0,21 Proz. möchten wir keine größere Bedeutung beimessen, denn letzten Endes kommt es ja immer auf die ermolkene Fettmenge an. Letztere sowie auch die übrigen Zahlen weisen aber so geringe Abweichungen auf, daß wir sie als durchaus innerhalb der Versuchsfehler liegend bezeichnen möchten.

Anders scheinen dagegen die Verhältnisse bei der rotbunten Kuh B zu liegen. Die Futterration dieses Versuchstieres war zwar bezüglich der Menge des verdaulichen Eiweißes reichlich gehalten, in bezug auf den

Stärkewert etwas knapp. Hier hat der Ersatz des Proteinstickstoffs durch eine gleiche Menge Stickstoff in Form von Harnstoff entschieden ungünstig gewirkt. Milchmenge, Fett- sowie Eiweißmenge und demgemäß auch der Gehalt an Trockensubstanz sind infolge der Harnstoffverfütterung entschieden zurückgegangen. Daß es sich hierbei aber nicht um einen unregelmäßigen Verlauf der Laktation handelt, geht wohl am besten daraus hervor, daß in der dritten Periode, in welcher an Stelle von Trockenhefe wieder Harnstoff verfüttert wurde, sogleich auch ein Ansteigen der Milchmenge als auch aller Milchbestandteile stattgefunden hat. Es geht dies am deutlichsten hervor, wenn man die für die zweite (Harnstoff) und dritte Periode (Trockenhefe) gefundenen Werte einander gegenüberstellt:

| | Milchmenge kg | Fettgehalt Proz. | Fettmenge g | Trockensubstanzmenge g | Eiweißgehalt Proz. | Eiweißmenge g |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2. Periode (Harnstoff) . . . . | 5,781 | 3,22 | 185,62 | 678,11 | 2,68 | 154,93 |
| 3. ,, (Trockenhefe) . . . | 5,943 | 3,36 | 200,00 | 716,13 | 2,82 | 167,59 |
| Mithin in der 3. Periode mehr (+) oder weniger (—) als in der 2. Periode . . | +0,162 | +0,14 | +14,38 | +38,02 | +0,14 | +12,66 |

Wenn auch die Unterschiede nicht erheblich sind, so wäre es doch ein etwas merkwürdiger Zufall, daß nach Ersatz des Harnstoffs durch Trockenhefe nicht nur wieder ein Ansteigen der Milchmenge selbst, sondern auch eine Vermehrung aller Milchbestandteile stattgefunden hat. Daß bei Kuh B der Harnstoff nicht den Proteinstickstoff der Trockenhefe vollkommen zu ersetzen vermocht hat, möchten wir auch aus dem Lebendgewicht des Tieres folgern. Dasselbe betrug im Durchschnitt der Hefeperioden (1 und 3) 451,7 bzw. 449,5 kg, ging aber in der Harnstoffperiode auf 443,5 kg zurück.

Worauf ist nun bei Kuh B die weniger günstige Wirkung der Harnstoffverfütterung zurückzuführen, denn es kann wohl kein Zweifel darüber bestehen, daß der Rückgang im Milchertrag sowohl wie auch in der prozentischen Zusammensetzung und dem Gehalt an den einzelnen Bestandteilen der Milch den Veränderungen des Futters zur Last gelegt werden muß. Zunächst müssen wir annehmen, daß auch die verhältnismäßig erhebliche Menge verdaulichen Eiweißes nicht ausgereicht hat, um den Bedarf dieses Tieres zur Lebenserhaltung und zur Milchbildung zu decken. Hierfür spricht der Rückgang im Milchertrag und im Lebendgewicht schon vor Beginn des eigentlichen Versuches. Es kommt ferner hinzu, daß wir bezüglich des Stärkewertes absichtlich unter der Norm geblieben waren, weil wir wissen, daß bei reichlichem Vorhandensein leicht verdaulicher Kohlehydrate unter Umständen die gesamte Stickstoffsubstanz des Futters, soweit sie nicht zur bloßen Lebenserhaltung des Tieres verbraucht wird, fast ausschließlich in Form von Eiweißstoffen in der Milch erscheint. Das hätte zur Folge haben können, daß eine Wirkung des Harnstoffs vorgetäuscht wurde, während es sich tatsächlich infolge des Vorhandenseins einer reichlichen Menge hochverdaulicher Kohlehydrate nur um eine vollständigere Überführung des noch vorhandenen Futtereiweißes in Milcheiweiß gehandelt haben würde. Der Rückgang in Menge und Zusammensetzung der Milch während der Harnstoffperiode könnte demnach nur auf einen unzureichenden Gehalt der Futterration an Stärkewerten überhaupt zurückgeführt werden, infolgedessen nicht genügend leicht lösliche Kohlehydrate zur Bildung

von Bakterieneiweiß und auch zur Milchbildung im allgemeinen zur Verfügung gestanden hätten. Ob diese Erklärung richtig ist, lassen wir vorläufig noch dahingestellt sein, denn die Kuh bekam neben reiner Kartoffelstärke zur Ergänzung des Stärkewertes der Harnstoffperiode pro Tag 2 kg Kartoffelflocken und 1,5 kg Zuckerschnitzel, welche 42,50 Proz. Zucker enthielten.

Nun läßt sich gegen unsere Schlußfolgerung aus dem Versuche mit der schwarzbunten Kuh A, nämlich daß hier der Stickstoff des Harnstoffs den Proteinstickstoff der Trockenhefe zu ersetzen vermocht hat, aber der Einwand erheben, daß infolge der sehr kohlehydratreichen Fütterung in der Harnstoffperiode eine wesentlich bessere Verwertung des im Futter vorhandenen Eiweiß-N zur Milchbildung stattgefunden hätte. Ein Einwand, der zweifelsohne nicht ohne weiteres von der Hand gewiesen werden kann. Hierüber sowie auch über die bei beiden Tieren stattgefundene Verwertung der Stickstoffsubstanzen des Futters im allgemeinen und zur Milchbildung im besonderen, kann uns am ehesten eine Gegenüberstellung sämtlicher Stickstoffeinnahmen und -ausgaben Aufschluß geben.

Über den Stickstoffgehalt der einzelnen Futtermittel und denjenigen der in den verschiedenen Perioden produzierten Milch geben die bereits oben angeführten Tabellen Auskunft. Die täglichen Stickstoffausscheidungen im Harn sind in den tabellarischen Zusammenstellungen auf der folgenden und nächstfolgenden Seite enthalten.

Die in den frischen Koten ausgeführten Stickstoffbestimmungen ergaben, auf wasserfreie Substanz berechnet, folgende Zahlen:

| | 1. Periode Proz. | 2. Periode Proz. | 3. Periode Proz. |
|---|---|---|---|
| Kuh A | 3,73 | 3,45 | 3,61 |
| Kuh B | 3,30 | 3,27 | 3,25 |

Die täglichen Einnahmen an Gesamt- und an Eiweiß-N stellten sich nun in den einzelnen Perioden wie folgt:

| | 1. Periode | | 2. Periode | | 3. Periode | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Gesamt-N g | Eiweiß-N g | Gesamt-N g | Eiweiß-N g | Gesamt-N g | Eiweiß-N g |
| | | | Kuh A. | | | |
| Wiesenheu | 26,96 | 23,31 | 26,75 | 23,12 | 26,75 | 23,12 |
| Haferstroh | 5,37 | 4,48 | 5,16 | 4,30 | 5,04 | 4,20 |
| Zuckerschnitzel | 22,23 | 19,83 | 22,44 | 20,02 | 22,54 | 20,11 |
| Kartoffelflocken | 25,08 | 19,36 | 25,08 | 19,36 | 24,96 | 19,27 |
| Kokoskuchen | 49,91 | 48,28 | 49,17 | 47,57 | 48,81 | 47,61 |
| Trockenhefe | 81,66 | 64,94 | — | — | 80,73 | 64,21 |
| Harnstoff | — | — | 82,69 | — | — | — |
| Zusammen | **211,21** | **180,20** | **211,29** | **114,37** | **208,83** | **178,12** |
| | | | Kuh B. | | | |
| Wiesenheu | 26,75 | 23,12 | 26,75 | 23,12 | 26,53 | 22,94 |
| Haferstroh | 5,16 | 4,30 | 5,04 | 4,20 | 5,04 | 4,20 |
| Zuckerschnitzel | 13,46 | 12,01 | 13,56 | 12,10 | 13,36 | 11,92 |
| Kartoffelflocken | 20,06 | 15,48 | 19,95 | 15,40 | 19,72 | 15,22 |
| Erdnußkuchen | 76,44 | 74,30 | 76,44 | 74,30 | 75,62 | 73,50 |
| Trockenhefe | 92,72 | 74,53 | — | — | 90,01 | 71,58 |
| Harnstoff | — | — | 92,86 | — | — | — |
| Zusammen | **234,59** | **203,74** | **234,60** | **129,12** | **230,28** | **199,36** |

| Datum | Kot: Kot frisch kg | Kot: Kot-trocken-substanz Proz. | Kot: Gesamt-menge der Kot-trocken-substanz kg | Harn: Menge kg | Harn: Spez. Gew. bei 18° C | Harn: Stickstoff-gehalt Proz. | Harn: Stickstoff-menge g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kuh A. 1. Periode: Grundfutter + *Trockenhefe*. | | | | | | |
| 30. VIII. 1921 | 18,62 | 13,86 | 2,58 | 14,640 | 1,026 | 0,55 | 80,520 |
| 31. VIII. | 16,12 | 14,45 | 2,33 | 10,115 | 1,032 | 0,71 | 71,817 |
| 1. IX. | 16,76 | 13,78 | 2,31 | 11,420 | 1,030 | 0,68 | 77,542 |
| 2. IX. | 16,38 | 13,31 | 2,18 | 11,005 | 1,029 | 0,65 | 71,741 |
| 3. IX. | 15,12 | 14,09 | 2,13 | 11,120 | 1,030 | 0,65 | 72,169 |
| 4. IX. | 15,87 | 14,01 | 2,22 | 11,300 | 1,030 | 0,58 | 65,676 |
| 5. IX. | 15,59 | 13,98 | 2,18 | 14,090 | 1,023 | 0,52 | 73,310 |
| 6. IX. | 19,37 | 12,70 | 2,46 | 9,690 | 1,030 | 0,69 | 66,735 |
| 7. IX. | 20,92 | 12,00 | 2,51 | 13,620 | 1,027 | 0,60 | 81,162 |
| 8. IX. | 16,26 | 13,35 | 2,17 | 14,200 | 1,026 | 0,54 | 77,319 |
| Im Mittel . . . | **17,101** | **13,55** | **2,307** | **12,120** | **1,028** | **0,62** | **73,799** |
| | Kuh A. 2. Periode: Grundfutter + *Harnstoff*. | | | | | | |
| 19. IX. 1921 | 16,25 | 13,55 | 2,20 | 12,370 | 1,026 | 0,71 | 87,951 |
| 20. IX. | 18,35 | 13,03 | 2,39 | 16,500 | 1,022 | 0,57 | 94,479 |
| 21. IX. | 17,39 | 13,18 | 2,29 | 13,290 | 1,026 | 0,70 | 93,136 |
| 22. IX. | 15,20 | 13,16 | 2,00 | 12,170 | 1,028 | 0,76 | 92,748 |
| 23. IX. | 18,76 | 12,90 | 2,42 | 14,150 | 1,027 | 0,75 | 106,696 |
| 24. IX. | 14,35 | 13,31 | 1,91 | 14,840 | 1,023 | 0,66 | 98,572 |
| 25. IX. | 15,64 | 12,73 | 1,99 | 12,380 | 1,027 | 0,73 | 90,684 |
| 26. IX. | 14,97 | 12,31 | 1,84 | 13,090 | 1,027 | 0,73 | 96,081 |
| 27. IX. | 16,84 | 12,97 | 2,18 | 14,540 | 1,022 | 0,63 | 91,239 |
| 28. IX. | 15,25 | 13,20 | 2,01 | 13,520 | 1,023 | 0,62 | 83,959 |
| Im Mittel . . . | **16,300** | **13,03** | **2,123** | **13,685** | **1,025** | **0,69** | **93,657** |
| | Kuh A. 3. Periode: Grundfutter + *Trockenhefe*. | | | | | | |
| 9. X. 1921 | 13,81 | 14,36 | 1,98 | 13,560 | 1,027 | 0,59 | 79,733 |
| 10. X. | 16,01 | 14,36 | 2,30 | 10,460 | 1,031 | 0,68 | 71,651 |
| 11. X. | 16,32 | 14,23 | 2,32 | 13,810 | 1,026 | 0,60 | 83,136 |
| 12. X. | 17,98 | 13,62 | 2,45 | 14,020 | 1,025 | 0,57 | 79,914 |
| 13. X. | 14,53 | 14,22 | 2,07 | 13,760 | 1,025 | 0,57 | 77,882 |
| 14. X. | 17,84 | 13,57 | 2,42 | 13,970 | 1,025 | 0,56 | 78,372 |
| 15. X. | 16,94 | 13,71 | 2,32 | 14,730 | 1,023 | 0,55 | 81,457 |
| 16. X. | 14,96 | 13,97 | 2,09 | 12,830 | 1,026 | 0,61 | 78,236 |
| 17. X. | 15,43 | 14,24 | 2,20 | 11,930 | 1,030 | 0,67 | 80,289 |
| 18. X. | 15,89 | 14,56 | 2,31 | 11,080 | 1,033 | 0,78 | 86,313 |
| Im Mittel . . . | **15,971** | **14,08** | **2,246** | **13,015** | **1,027** | **0,62** | **79,701** |
| | Kuh B. 1. Periode: Grundfutter + *Trockenhefe*. | | | | | | |
| 19. IX. 1921 | 14,00 | 12,58 | 1,76 | 9,350 | 1,032 | 1,36 | 127,160 |
| 20. IX. | 17,54 | 12,34 | 2,16 | 7,950 | 1,034 | 1,28 | 101,760 |
| 21. IX. | 15,89 | 11,60 | 1,84 | 9,960 | 1,034 | 1,38 | 137,249 |
| 22. IX. | 17,84 | 10,87 | 1,94 | 9,900 | 1,034 | 1,38 | 136,224 |
| 23. IX. | 16,70 | 10,71 | 1,79 | 8,600 | 1,034 | 1,47 | 126,463 |
| 24. IX. | 18,57 | 11,27 | 2,09 | 10,470 | 1,032 | 1,25 | 130,561 |
| 25. IX. | 17,22 | 11,97 | 2,06 | 9,170 | 1,033 | 1,27 | 116,642 |
| 26. IX. | 19,01 | 10,91 | 2,07 | 10,060 | 1,033 | 1,32 | 132,893 |
| 27. IX. | 19,07 | 10,43 | 1,99 | 9,040 | 1,032 | 1,33 | 119,870 |
| 28. IX. | 15,93 | 11,69 | 1,86 | 9,220 | 1,033 | 1,34 | 123,548 |
| Im Mittel . . . | **17,177** | **11,44** | **1,956** | **9,372** | **1,033** | **1,34** | **125,237** |

| Datum | Kot: Kot frisch kg | Kot: Kot-trocken-substanz Proz. | Kot: Gesamt-menge der Kot-trocken-substanz kg | Harn: Menge kg | Harn: Spez. Gew. bei 18° C | Harn: Stickstoff-gehalt Proz. | Harn: Stickstoff-menge g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Kuh B. 2. Periode: Grundfutter + *Harnstoff*.** | | | | | | | |
| 9. X. 1921 | 17,36 | 10,83 | 1,88 | 10,800 | 1,029 | 1,43 | 154,548 |
| 10. X. | 15,78 | 11,51 | 1,82 | 9,990 | 1,031 | 1,51 | 150,549 |
| 11. X. | 14,91 | 11,46 | 1,71 | 9,290 | 1,030 | 1,58 | 146,596 |
| 12. X. | 17,63 | 10,54 | 1,86 | 10,950 | 1,031 | 1,50 | 164,031 |
| 13. X. | 18,49 | 10,50 | 1,94 | 8,350 | 1,030 | 1,59 | 132,765 |
| 14. X. | 16,90 | 11,02 | 1,86 | 9,940 | 1,031 | 1,41 | 140,353 |
| 15. X. | 15,66 | 11,71 | 1,83 | 9,300 | 1,032 | 1,55 | 144,522 |
| 16. X. | 14,56 | 11,58 | 1,69 | 9,180 | 1,031 | 1,44 | 132,100 |
| 17. X. | 19,42 | 10,88 | 2,11 | 10,580 | 1,033 | 1,53 | 161,557 |
| 18. X. | 15,41 | 10,91 | 1,68 | 8,330 | 1,031 | 1,61 | 133,946 |
| Im Mittel . . . | **16,612** | **11,09** | **1,838** | **9,671** | **1,031** | **1,52** | **146,097** |
| **Kuh B. 3. Periode: Grundfutter + *Trockenhefe*.** | | | | | | | |
| 29. X. 1921 | 16,64 | 13,46 | 2,24 | 9,630 | 1,031 | 1,24 | 118,932 |
| 30. X. | 13,46 | 12,51 | 1,68 | 8,090 | 1,032 | 1,35 | 109,134 |
| 31. X. | 14,58 | 12,80 | 1,87 | 9,280 | 1,032 | 1,39 | 129,178 |
| 1. XI. | 16,43 | 12,55 | 2,06 | 9,570 | 1,031 | 1,31 | 124,984 |
| 2. XI. | 14,24 | 12,79 | 1,82 | 10,530 | 1,032 | 1,22 | 128,466 |
| 3. XI. | 14,81 | 13,74 | 2,04 | 9,430 | 1,032 | 1,35 | 127,494 |
| 4. XI. | 13,41 | 13,10 | 1,76 | 8,860 | 1,032 | 1,37 | 121,205 |
| 5. XI. | 15,95 | 12,82 | 2,04 | 10,000 | 1,031 | 1,37 | 136,900 |
| 5. XI. | 13,05 | 13,64 | 1,78 | 10,730 | 1,031 | 1,23 | 132,408 |
| 7. XI. | 14,99 | 12,91 | 1,94 | 11,450 | 1,030 | 1,26 | 144,385 |
| Im Mittel . . . | **14,756** | **13,03** | **1,923** | **9,757** | **1,031** | **1,31** | **127,309** |

Demnach stellen sich die Stickstoffbilanzen wie folgt:

| | 1. und 3. Periode (Trockenhefe) g N | 1. und 3. Periode (Trockenhefe) g N | 2. Periode (Harnstoff) g N |
|---|---|---|---|
| **Kuh A.** | | | |
| Im Futter . . . . . . . . . . . | 211,31 | 208,83 | 211,29 |
| Im Kot . . . . . . . . . . . . | 86,74 | 83,39 | 73,24 |
| Verdaut (Differenz) . . . . . . | 124,57 | 125,44 | 138,05 |
| Im Harn . . . . . . . . . . . . | 73,80 | 79,70 | 93,66 |
| In der Milch . . . . . . . . . . | 30,01 | 26,51 | 28,09 |
| Verlust (—) oder Gewinn (+) am Körper . | + 20,76 | + 19,23 | + 17,30 |
| **Kuh B.** | | | |
| Im Futter . . . . . . . . . . . | 234,59 | 230,28 | 234,60 |
| Im Kot . . . . . . . . . . . . | 64,58 | 62,49 | 60,10 |
| Verdaut (Differenz) . . . . . . | 170,01 | 167,79 | 174,50 |
| Im Harn . . . . . . . . . . . . | 125,24 | 127,31 | 146,10 |
| In der Milch . . . . . . . . . . | 34,18 | 27,96 | 25,78 |
| Verlust (—) oder Gewinn (+) am Körper . | + 10,59 | + 12,52 | + 2,62 |

Bei Kuh A ist hiernach der Stickstoffansatz in allen drei Perioden fast der gleiche, und zwar insofern, als der Ersatz von 81,66 bzw. 80,73 g Proteinstickstoff als Trockenhefe gegeben durch 82,69 g Stickstoff in Form von Harnstoff, nur eine im Durchschnitt um 2,69 g geringere Stickstoffretention bewirkt hat. Anders dagegen liegen wiederum die Verhältnisse bei der rotbunten Kuh B. Hier sind im Mittel der ersten und dritten Periode 11,56 g Stickstoff zum Ansatz gelangt, bei einem Ersatz der Trockenhefe durch Harnstoff aber nur 2,62 g N, das sind 8,94 g entsprechend 77,34 Proz. weniger als bei Verabfolgung von Proteinstickstoff. Also auch in bezug auf den Ansatz hat hier der Stickstoff in Form von Harnstoff ungünstiger gewirkt als der in der Trockenhefe verabfolgte Proteinstickstoff.

Von wesentlich größerem Interesse ist aber nun die Frage, ob und inwieweit zunächst die verdaute Stickstoffsubstanz an der Eiweißbildung der Milch überhaupt beteiligt gewesen ist. Um nun zu ermitteln, wieviel Stickstoff in den vorliegenden Versuchen für die Milchbildung verfügbar war, hat man von dem verdauten Stickstoff den Betrag abzuziehen, der zur bloßen Lebenserhaltung des betreffenden Tieres notwendig ist. Diesen Bedarf nimmt *O. Kellner* bei genügender Zufuhr von Kohlehydraten zu 40 g je 500 kg Lebendgewicht an. Da im Durchschnitt der drei Versuchsperioden Kuh A ein Gewicht von rund 480 kg und Kuh B ein solches von rund 450 kg aufwies, so belief sich demnach der Stickstoffbedarf zur Lebenserhaltung auf 38 bzw. auf 36 g. Es würde sich demnach folgende Berechnung ergeben:

| | Verdaut g | Im Harn g | In der Milch g | Angesetzt g | Zur Lebenserhaltung erforderlich g | Für die Milchbildung verfügbar g | In der Milch in Proz. der verfügbaren Menge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Kuh A. | | | | |
| 1. Trockenhefe | 124,57 | 73,80 | 30,01 | 20,76 | 38 | 65,81 | 46 |
| 2. Harnstoff . | 138,05 | 93,66 | 28,09 | 17,30 | 38 | 82,75 | 34 |
| 3. Trockenhefe | 125,44 | 79,70 | 26,51 | 19,23 | 38 | 68,21 | 39 |
| | | | Kuh B. | | | | |
| 1. Trockenhefe | 170,01 | 125,24 | 34,18 | 10,59 | 36 | 123,42 | 28 |
| 2. Harnstoff . | 174,50 | 146,10 | 25,78 | 2,62 | 36 | 135,88 | 19 |
| 3. Trockenhefe | 167,79 | 127,31 | 27,96 | 12,52 | 36 | 119,27 | 24 |

Zu dieser Berechnung ist noch zu bemerken, daß der Stickstoffansatz in der für die Milchbildung verfügbaren Menge nicht mit inbegriffen ist.

Im übrigen geht aus obigem hervor, daß in beiden Harnstoffperioden prozentual weniger Stickstoff für die Milchbildung zur Verfügung stand als in den Perioden mit Trockenhefe. Es muß daher angenommen werden, daß zum mindesten ein Teil des Stickstoffs vom Harnstoff zwar resorbiert, aber unverändert im Harn wieder ausgeschieden worden ist. Für die Richtigkeit dieser Annahme spricht auch der Umstand, daß die Stickstoffausscheidungen im Harn infolge des Ersatzes der Trockenhefe durch Harnstoff größer gewesen sind als in den Vergleichsperioden. Ob und inwieweit

aber der Stickstoff des Harnstoffs überhaupt an der Bildung des Milcheiweißes beteiligt gewesen ist, läßt sich hieraus noch nicht erkennen. Hierüber kann vielmehr erst die nähere Feststellung der den Versuchstieren zur Verfügung stehenden wirklichen Eiweißmengen Aufschluß geben. Rechnet man den gesamten Kotstickstoff auf unverdautes bzw. im Stoffwechsel verändertes Eiweiß, so erhält man für die Einnahmen und Ausgaben an Eiweiß-N folgende Zahlen:

Kuh A.

| | 1. und 3. Periode (Trockenhefe) | | 2. Periode (Harnstoff) |
|---|---|---|---|
| | g N | g N | g N |
| Im Futter | 180,22 | 178,12 | 114,37 |
| Im Kot | 86,74 | 83,39 | 73,24 |
| Verdaut (Differenz) | 93,48 | 94,73 | 41,13 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | + 20,76 | + 19,23 | + 17,30 |
| Mithin für Milch und Erhaltung verfügbar | 72,72 | 75,50 | 23,83 |
| Ab für Lebenserhaltung | 38,00 | 38,00 | 38,00 |
| Mithin für die Milch verfügbar | 34,72 | 37,50 | — 14,17 |
| In der Milch | 30,01 | 26,51 | 28,09 |
| Demnach in der Milch in Proz. der verfügbaren Menge | 86,4 | 70,7 | — |

Aus diesem Versuche geht zweifelsohne hervor, daß unter den hier gegebenen Versuchsverhältnissen, d. h. bei reichlicher Verfütterung leicht löslicher Kohlehydrate der Harnstoff zur Eiweißbildung Verwendung gefunden haben und an der Milcheiweißbildung beteiligt gewesen sein muß. Der im Futter zugeführte und für Milch und Erhaltung verfügbare Eiweiß-N reichte nicht einmal zur Produktion der in der Milch abgesonderten Eiweißmenge aus, vielmehr fehlten allein hieran schon 4,26 g Eiweiß-N. Rechnet man hierzu noch die zur Lebenserhaltung etwa erforderlichen 38 g Eiweiß-N hinzu, so hätten also insgesamt nicht weniger als 42,26 g Eiweiß-N zur Milchbildung und Lebenserhaltung gefehlt. Wäre dies aber tatsächlich der Fall gewesen, so hätte der Körper einen dementsprechenden Zuschuß leisten müssen. Es traf dies aber nicht zu, vielmehr gelangten in der Harnstoffperiode sogar noch 17,30 g Stickstoff zum Ansatz. Hieran kann auch nichts der etwaige Einwand ändern, daß die zur Lebenserhaltung eingesetzte Menge zu hoch gegriffen sei, und daß der tierische Organismus in dieser Beziehung mit einer wesentlich geringeren Menge Eiweiß auskommt, weil ja schon in der Milch mehr Stickstoff zur Ausscheidung gelangte, als an verdautem Eiweiß-N für Milchbildung und Lebenserhaltung zusammen zur Verfügung stand.

Es fragt sich nun, wie sich diese Verhältnisse bei der rotbunten Kuh B gestalteten, deren Futterration eine geringere Menge hochverdaulicher Kohlehydrate enthielt und deren Gehalt an Stärkewert unter den üblichen Normen blieb.

Kuh B.

| | 1. und 3. Periode (Trockenhefe) | | 2. Periode (Harnstoff) |
|---|---|---|---|
| | g N | g N | g N |
| Im Futter | 203,74 | 199,36 | 129,12 |
| Im Kot | 64,58 | 62,49 | 60,10 |
| Verdaut (Differenz) | 139,16 | 136,87 | 69,02 |
| Ansatz (+) oder Verlust (—) am Körper | + 10,59 | + 12,52 | + 2,62 |
| Mithin für Milch und Erhaltung verfügbar | 128,57 | 124,35 | 66,40 |
| Ab für Lebenserhaltung | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| Mithin für die Milch verfügbar | 92,57 | 88,35 | 30,40 |
| In der Milch | 34,18 | 27,96 | 25,78 |
| Demnach in der Milch in Proz. der verfügbaren Menge | 36,9 | 31,6 | 83,8 |

Aus dem Versuche mit Kuh B, verglichen mit den bei der Kuh A erzielten Ergebnissen, geht zunächst hervor, daß von den über den Erhaltungsbedarf hinaus gereichten Eiweißmengen doch recht verschiedene Mengen in die Milch übergehen können. Die in dieser Beziehung zwischen den beiden Versuchstieren, abgesehen zunächst von der Harnstoffperiode, auftretenden Unterschiede sind vielleicht auf den ungleichen Gehalt der Futterrationen an hoch verdaulichen Kohlehydraten zurückzuführen. In der Harnstoffperiode ist dagegen der über den Erhaltungsbedarf hinaus gegebene Eiweißstickstoff zum allergrößten Teile in Milcheiweiß umgewandelt worden. Vielleicht wäre hier die Umwandlung des verdauten Futtereiweißes in Milcheiweiß sogar eine annähernd quantitative gewesen, wenn die Futterration noch größere Mengen leicht löslicher und verdaulicher Kohlehydrate enthalten hätte. Eine Erscheinung, die auch schon in Versuchen von *O. Kellner* beobachtet wurde, indem nämlich bei niedrig bemessenem Gehalt der Nahrung an Protein, aber bei reichlicher Zufuhr von stickstofffreien Nährstoffen das im Überschuß über den Erhaltungsbedarf verabreichte verdauliche Protein sehr vollständig in die der Milch eigentümlichen Stickstoffsubstanzen umgewandelt wurde. Voraussetzung hierfür ist aber, daß dann der zum Eiweißaufbau notwendige Arbeitsaufwand ausschließlich von den stickstofffreien Stoffen geliefert und weiterhin kein aus dem Futtereiweiß stammendes Eiweißspaltstück zur Milchfett- oder Milchzuckerbildung benötigt wird. Eine möglichst vollkommene Überführung des verdauten Futtereiweißes in Milcheiweiß wird daher wahrscheinlich in hohem Grade von der Zusammensetzung des übrigen Futters abhängig sein, und zwar insofern, als der Gehalt der Futterration an leicht löslichen und hoch verdaulichen Kohlehydraten hier nicht ohne Einfluß sein dürfte. Je reicher ein Futter an letzteren ist, desto haushälterischer wird das Tier mit der zur Verfügung stehenden Proteinmenge umzugehen verstehen. Selbstverständlich kann auch dies nur innerhalb gewisser Grenzen geschehen. Eine Tatsache, auf die in letzter Zeit auch *G. Fingerling* wiederholt hingewiesen hat. In bezug auf eine Beteiligung

des Harnstoffs an der Eiweißbildung der Milch bietet der Versuch mit Kuh B keine positive Unterlagen. Der verdaute Futtereiweißstickstoff genügte auch nach Abzug der für die Lebenserhaltung notwendigen Menge zur Bildung und Ergänzung des in der Milch ausgeschiedenen Eiweißes. Hiermit ist freilich noch nicht gesagt, daß auch bei diesem Versuchstiere nicht doch der Stickstoff des Harnstoffs in irgendwelcher Weise zur Lebenserhaltung und zur Milcheiweißbildung beigetragen hat. Da wir dies aber nicht rechnerisch und experimentell nachweisen können, sehen wir von weiteren hypothetischen Betrachtungen ab. Auf Grund der in bezug auf Menge und Zusammensetzung der Milch erzielten Ergebnisse müssen wir sogar ohne weiteres zugeben, daß bei Kuh B das aus dem Stickstoff des Harnstoffs und den Kohlehydraten etwa erzeugte Eiweiß zum mindesten nicht ausgereicht hat, um den ausgetauschten Proteinstickstoff der Trockenhefe auch nur einigermaßen zu ersetzen.

Die in dieser Versuchsreihe erzielten Ergebnisse stimmen also bei den beiden Versuchskühen nicht überein. Für die Kuh A ergibt eine Gegenüberstellung der Einnahmen und Ausgaben an Eiweißstickstoff, daß in der Harnstoffperiode der verdaute Eiweißstickstoff nicht einmal ausgereicht hat, um den für die Lebenserhaltung notwendigen Bedarf zu decken. Da der tierische Organismus diesen in erster Linie benötigt und erst ein Überschuß hierüber zur Produktion (in diesem Falle Milcheiweiß) Verwendung finden dürfte, so fehlte also der für die Milcheiweißbildung erforderliche völlig. In dem vorliegenden Falle müßten also nicht weniger als 42,26 g N aus einer anderen Stickstoffquelle als der des Futtereiweißstickstoffs gedeckt worden sein. Da die Kuh in der Harnstoffperiode aber nicht vom Körpereiweiß zugeschossen, vielmehr sogar ein Stickstoffansatz stattgefunden hat, so bleibt nur die Annahme übrig, daß die Amide des Futters und der Stickstoff des Harnstoffs unter den hier gewählten Versuchsbedingungen den Eiweißstickstoff bis zu einem gewissen Grade ersetzt haben und auch an der Bildung des Milcheiweißes beteiligt gewesen sein müssen. Hieran kann auch nichts der etwaige Einwand ändern, daß die von uns zur Lebenserhaltung eingesetzte Stickstoffmenge zu hoch gegriffen ist. Auf Menge und Zusammensetzung der Milch war bei diesem Versuchstiere der Ersatz der Trockenhefe durch eine im Stickstoffgehalt gleiche Menge Harnstoff bei gleichem Stärkewert ohne wesentlichen Einfluß, jedoch erscheint die ermolkene Fettmenge relativ wie absolut eine geringe Vermehrung erfahren zu haben. Bei Kuh B dagegen hat der Ersatz von Trockenhefe durch Harnstoff + Stärkemehl die Milchsekretion offensichtlich nicht günstig beeinflußt, trotzdem aus der Eiweißstickstoffbilanz hervorgeht, daß im Futter so viel verdauliches Eiweiß vorhanden war, um hiermit nicht nur den zur Lebenserhaltung notwendigen Bedarf, sondern auch die zur Bildung des Milcheiweißes erforderlichen Mengen zu decken. Voraussetzung hierfür wäre freilich, daß von dem in der Harnstoffperiode über den Erhaltungsbedarf hinaus gereichten Eiweiß rund 84 Proz. in Milcheiweiß umgewandelt worden wären, während dies in den Hefeperioden nur zu 37 bzw. 32 Proz. der Fall war. Wenn nun auch von einzelnen Forschern angenommen wird, daß der für die Milch verfügbare Eiweißstickstoff unter gewissen Bedingungen vollständig, d. h. zu 100 Proz., verwertet werden kann, so neigen doch andere und besonders *A. Morgen* auf Grund eines umfangreichen, experimentellen Materials der Ansicht zu, daß die Verwertung nicht über 60 bis allerhöchstens 70 Proz. hinausgeht. Ist diese Annahme zutreffend, so müßte auch bei der Kuh B der Amidstickstoff

entweder zur Lebenserhaltung oder zur Milchbildung bzw. zu beiden Verwendung gefunden haben. Jedenfalls glauben wir, wie dies auch ähnlich *A. Morgen* bei seinen Versuchen getan hat, aus dieser Versuchsreihe die Schlußfolgerung ziehen zu können, *daß in einer normale Mengen Reineiweiß enthaltenden Ration ein teilweiser Ersatz des Reineiweißes durch Harnstoff bis zu etwa 30 bis 40 Proz. ohne erhebliche Schädigung der Produktion möglich ist.*

In ihrer Gesamtheit dürften die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen die von *W. Völtz* aufgestellte Behauptung bestätigen, daß nämlich *der Harnstoff ebenso wie andere Amide befähigt sind, beim Wiederkäuer unter bestimmten Bedingungen die Rolle des Nahrungseiweißes bei der Milchsekretion in einem gewissen Umfange zu übernehmen.*

# Über eine labile Eiweißform und ihre Beziehung zum lebenden Protoplasma. II.

Von

**Oscar Loew**, München.

*(Eingegangen am 2. Oktober 1923.)*

In einer früheren Mitteilung unter gleichem Titel[1]) habe ich eine in den Vakuolen vieler Pflanzenzellen vorkommende, von *Loew* und *Bokorny* zuerst beobachtete labile Eiweißform beschrieben, welche durch schwache Basen, wie Coffein und Antipyrin, in unverändertem Zustande in einer wasserreichen tropfenartigen lichtbrechenden Form — Proteosomen — in den Zellen sichtbar gemacht werden und so mikrochemischen Beobachtungen zugängig gemacht werden kann. Die durch Coffein (0,5proz. Lösung) erzeugten Tropfen, die Coffeinproteosomen, enthalten diese Base nur in sehr lockerer Bindung; denn nach baldiger Übertragung der Objekte aus der Coffeinlösung in bloßes Wasser verschwinden die Tropfen langsam wieder und der frühere Zustand wird wieder hergestellt. Erneute Anwendung von Coffein bringt die Tropfenbildungen wieder hervor.

Am besten eignen sich zu solchen Versuchen eiweißreiche *Spirogyra*arten, wie sie in den kühleren Jahreszeiten angetroffen werden. *Spirogyra majuscula* ist weitaus die günstigste Art für solche Versuche. Wenn die Coffeinlösung aber mehrere Tage eingewirkt hat, kann bereits der Koagulationsvorgang begonnen haben und die vollständige Wiederlösung ist dann nicht mehr möglich. Läßt man auf frische Coffeinproteosomen starke Kalilauge wirken, so wird bei deren Lösung eine beträchtliche Menge Coffein in Kristallen frei, ein Beweis, daß Coffein tatsächlich gebunden war.

Nun hat sich in neuester Zeit ergeben, daß in manchen Objekten die labile Eiweißmodifikation in Form lichtbrechender abgerundeter, den Coffeinproteosomen ähnlichen wasserreichen Gebilden sich vorfindet, daß also ein Reagens, um sie sichtbar zu machen, gar nicht nötig ist. Vielleicht hat ein höherer Grad von Konzentration diesen

[1]) Diese Zeitschr. **71**, 306, 1915.

Zustand — eine Störung des normalen Quellbarkeitsgrades — hier herbeigeführt. Bei den Tentakeln von *Drosera* reicht schon eine gewisse mechanische Reizung aus, den in den Vakuolen reichlich vorhandenen labilen Eiweißstoff in rundlichen Massen bis zu völligen Tropfen auszuscheiden[1]). Dieser Zustand kehrt allmählich zum ursprünglichen zurück. Die Tatsache, daß die labile Eiweißmodifikation, bevor sie durch den uns noch völlig unbekannten Organisationsvorgang zum lebenden Protoplasma geworden ist, einer Reizwirkung zugänglich ist, erinnert an die interessante Beobachtung *Neubergs*, daß die hochlabile Zymase, selbst nach ihrer Abtrennung aus der Hefezelle, einer chemischen Reizwirkung zugänglich ist; denn sie wird durch verschiedene Aldehyde zu bedeutend erhöhter Tätigkeit stimuliert.

Spontan ausgeschiedene Tropfengebilde aus labilem Eiweiß finden sich auch in den Haaren von *Myriophyllum*[2]), und zwar in den jüngsten Zellen, während die in den älteren Zellen vorhandenen Gebilde bereits den koagulierten Zustand erreicht haben.

Ein weiteres Vorkommen betrifft das Speichergewebe der Rinden junger Zweige[3]) verschiedener Bäume, wie *Salix*, *Populus*, *Acer*, *Alnus*, *Betula*. Die farblose Zellschicht unmittelbar unter der chlorophyllführenden Schicht der lebenden Rinde enthält zur Winterszeit in vielen Zellen stark lichtbrechende abgerundete Massen bis zu vollkommenen Tropfen, welche sich gegen hochverdünntes Ammoniak, Hydrazin, Hydroxylamin, Alkohol von 20 Proz., Formaldehyd, Säuren, höhere Temperatur, wie die von mir früher beschriebenen Coffeinproteosomen (l. c.) verhielten.

Eingehend untersucht habe ich vor kurzem auch das Vorkommen im Speichergewebe der Rinde der Pfingstrose (*Paeonia*), in welcher im Frühjahre in größerer Menge, in geringerer auch während des Sommers, die proteosomenähnlichen Gebilde vorkommen. Macht man einen Schnitt in die Rinde, so läßt sich von der Rinde die äußere Partie leicht abziehen. Unter dem Mikroskop lassen sich dann in den dünneren Partien der Rinde lichtbrechende Massen in vielen Zellen erkennen, und zwar auch, ohne daß man Wasser zum Objekt fügt behufs Erreichung eines klareren Bildes. Der eventuelle Einwand, daß erst Wasser die Gebilde hervorgerufen habe, ist also hinfällig.

---

[1]) Über diesen Vorgang herrschten ziemlich abenteuerliche Ansichten, da er auf das Protoplasma der Zellen bezogen wurde, welches aber einen relativ nur geringen Raum der Zellen in Anspruch nimmt. Erst die Arbeiten von *Bokorny* und von *E. Janson* in meinem Laboratorium haben die richtige Deutung erbracht. Siehe hierüber *E. Janson*, Beihefte z. Bot. Centralbl. 1920.

[2]) Siehe hierüber *E. Janson*, Flora, N. F. **10**, 365.

[3]) Hierüber hat kürzlich *A. Kern* aus meinem Laboratorium berichtet. Beihefte z. Bot. Centralbl. 1923.

Der weitere Einwand, daß erst durch das Abziehen der Rinde ein mechanischer Reiz erzeugt worden sei, der zur Ausscheidung geführt habe (etwa wie ein mechanischer Reiz bei *Drosera* wirkt), würde aber nicht viel bedeuten.

Die *chemische Prüfung* der Gebilde hat im wesentlichen Übereinstimmung mit dem Verhalten der Coffeinproteosomen ergeben.

Schließlich möchte ich noch einen pathologischen Fall erwähnen, den ich an den weißen Blättern an der Spitze eines sonst normalen grünen Zweiges von Acer campestre beobachtet habe. Die Epidermiszellen der weißen Blätter enthielten reichlich Tröpfchen, bestehend aus einer konzentrierten Lösung des labilen Eiweißstoffes. Bemerkenswert war hier besonders, daß bei Einwirkung einer 0,5proz. Coffeinlösung auf diese Tröpfchen dieselben allmählich zusammenflossen zu größeren Tropfen.

Die *Hauptunterschiede* dieses labilen Eiweißstoffes von dem gewöhnlichen, stabilen passiven Eiweißstoff bestehen in folgenden Beziehungen:

1. Er wird durch den Dunst von Äther und Chloroform koaguliert; auch durch neutrale konzentrierte Salzlösungen wird er allmählich unlöslich.

2. Sehr charakteristisch ist seine bedeutende Wasserbindungsfähigkeit.

3. Er verbindet sich leicht mit Basen und geht dadurch in unlösliche Verbindungen über. Besonders charakteristisch ist dieses Verhalten gegenüber Hydrazin, Hydroxylamin und selbst hochverdünntem Ammoniak. Die Labilität geht hierbei verloren.

4. Bei Einwirkung gewisser schwacher Basen, wie Coffein und Antipyrin, scheidet er sich in lockerer Bindung dieser Basen im labilen Zustande in Form von wasserreichen Tropfen aus seiner Lösung im Zellsafte vieler pflanzlicher Objekte aus. Solche Bildungen treten manchmal auch spontan auf.

5. Er wird durch Blausäure in eine unlösliche Verbindung übergeführt.

Schließlich noch einige Worte betreffs der labilen organischen Verbindungen innewohnenden Energie im Interesse derjenigen, welche von dem Wesen derselben in den lebenden Zellen gar keine richtige Vorstellung haben, wie aus folgendem Zitat hervorgeht, welches sich sowohl in einem neueren Werke über Pflanzenanatomie als auch in ganz ähnlicher Form in dem Werke eines Mediziners findet. Das Zitat hat folgenden Wortlaut:

„Obwohl alle organischen Verbindungen mehr oder weniger instabil und energietragend sind, so kann doch die charakteristische Labilität im Stoffwechsel nicht allein auf diesen Umstand zurückgeführt werden. Die

Labilität dürfte vielmehr auf der durchaus intimen Mischung der Stoffe in bestimmten Mengenverhältnissen, ferner auf ihrem kolloidalen Charakter beruhen. Sehr viel ist sicher auch auf das Konto der reaktionsbeschleunigenden Faktoren der Enzyme zu schreiben."

Es wird hier offenbar die Verbrennungswärme mit der freien chemischen Energie labiler Verbindungen verwechselt, ferner angenommen, daß eine feine Verteilung eine Energieäußerung herbeiführen könne und das Absterben im Übergange zu einer gröberen Verteilung im Protoplasma bestehe, und schließlich werden Enzyme herangezogen, ohne zu bedenken, daß die Bildung derselben auf einer schon vorher vorhandenen Energie beruht.

Die Arbeitsleistung des lebenden Protoplasmas hängt natürlich von der Menge der durch die Respiration gelieferten Kalorien ab, allein mit dieser Erklärung bleibt die Frage, welche Energie überhaupt die Respirationstätigkeit ermöglicht, ganz ungelöst. Nur die Labilität der Proteine, aus welchen das lebende Protoplasma aufgebaut ist, ermöglicht die kontinuierliche Oxydation der Thermogene dadurch, daß die heftige Atombewegung aus jenen labilen Molekülen auf den zur Verbrennung gelangenden Zucker oder Fett bzw. Lecithin übertragen wird, was ich als *induzierte Autoxydation* bezeichnet habe[1]). Es ist kinetische chemische Energie, welche hier bei relativ niederer Temperatur dasselbe leistet wie thermische Energie bei weit höherer Temperatur.

Wie hängt nun chemische Labilität mit Energieleistung zusammen? Ich habe schon vor geraumer Zeit darauf hingewiesen, daß man scharf unterscheiden muß zwischen chemisch labilen Körpern, welche bei der erfolgenden Atomumlagerung völlig zerstört werden, also explosiv sind, und solchen, welche bei der Atomumlagerung lediglich die labile Atomgruppierung verlieren bei Erhaltung des ganzen Moleküls, und bei welchen die labile Atomgruppierung eine ganze Reihe von chemischen Veränderungen ermöglicht. Die großen Unterschiede beider Arten von chemischer Labilität werden am schnellsten klar beim Vergleich von Nitroglycerin mit Äthylaldehyd. Ich habe darauf hingewiesen, daß dort die chemische Energie im potentiellen, hier aber im kinetischen Zustande vorhanden ist, und demgemäß habe ich unterschieden zwischen *potentieller und kinetischer chemischer Labilität*[2]).

Atome in lockerer Bindung werden durch thermische Energie in weitere Schwingungen versetzt werden als Atome in normaler fester Bindung. Jene weiteren Schwingungen sind charakteristisch für

---

[1]) Siehe hierüber meine Schrift: Die chemische Energie der lebenden Zelle, 2. Aufl., S. 127.

[2]) Siehe hierüber diese Zeitschr. 31, 160, 1911.

*kinetische chemische Energie*, auf welcher das Verhalten z. B. der Aldehydgruppen beruht, welche von jeher das größte Interesse jedes Chemikers erregt haben. Die Neigung zu Kondensation, Polymerisation, Autoxydation, wie auch die Leichtigkeit der Reaktion mit Hydrazin, Hydroxylamin, Ammoniak, Blausäure, Schwefelwasserstoff und Bisulfiten ist höchst auffallend und beruht auf der freien chemischen Energie, welche dem locker gebundenen Sauerstoff- und Wasserstoffatom der Aldehydgruppe innewohnt. Tritt in das Molekül eines Aldehyds eine Aminogruppe ein, so wird die Veränderlichkeit noch bedeutend gesteigert, wie Beobachtungen am Aminoäthylaldehyd von *Fischer* und von *Neuberg* ergeben haben. Dieser Körper verändert sich rasch von selbst, sobald er aus einer salzartigen Verbindung in Freiheit gesetzt wird, er verliert die Aldehydgruppe und damit jede Spur von Energieäußerung.

Das schönste und lehrreichste Kapitel der organischen Chemie ist das der labilen Verbindungen und ihrer Veränderungen. Möchten diejenigen, die künftig eine Ansicht über die Labilität in lebenden Zellen äußern wollen, sich vorher mit jenem Kapitel gründlich befreunden!

# Über das Verhalten des Eucupin- und des Harnsäuregels bei der Dialyse. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung.

Von

**P. Rona** und **W. B. Meyer.**

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 3. Oktober 1923.)*

Die Zahl der wohlcharakterisierten kristallinischen Verbindungen, deren Lösungen durch Änderungen physikalischer oder chemischer Art leicht in den Gelzustand überführt werden können, ohne daß es bisher gelungen wäre, diesen Gelen entsprechende Sole zu finden, mehrt sich. Das Harnsäuregel, dessen Vorkommen von *Schade*[1]) zuerst beobachtet und das neuerdings von *Keeser* und *Zocher*[2]) näher untersucht wurde, sowie die Gele, die sich aus dem Chinin und dessen Derivaten herstellen lassen, sind hierfür Beispiele. Für das Eucupingel haben *Rona* und *Takata*[3]) die Bedingungen seiner Entstehung klargelegt; das Vucingel ist von *Rona, Schmerl* und *Zocher*[4]) ausführlicher beschrieben und vor allem in Hinblick auf seine optischen Eigenschaften studiert worden.

Es lag nun nahe, zu untersuchen, durch welche Besonderheiten sich die Kristallogele auszeichnen, wenn man sie der Dialyse unterwirft. Im folgenden sei über Versuche berichtet, die in dieser Richtung zunächst an Eucupinlösungen, dann an Eucupingel und später an Uratgallerten vorgenommen wurden.

---

[1]) *H. Schade*, Zeitschr. f. klin. Med. **93**, 1, 1922.
[2]) *Keeser* und *H. Zocher*, Kolloidchem. Beih. **17**, 196, 1922.
[3]) *P. Rona* und *M. Takata*, diese Zeitschr. **134**, 97, 1922.
[4]) *P. Rona, E. Schmerl, H. Zocher*, ebendaselbst **137**, 413, 1923.

*Eichtabelle I.*

Phosphatpuffer . $p_H$ 6,6 ccm.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Eucupin 0,01 mol | 3 | 2 | 1 | 0,5 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| m/15 prim. Phosphat | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| m/15 sek. „ | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| Destilliertes Wasser | 0 | 1 | 2 | 2,5 | 2,7 | 2,8 | 2,9 |
| Eucupin mg-Proz. | 150 | 100 | 50 | 25 | 15 | 10 | 5 |
| „ mg | 15 | 10 | 5 | 2,5 | 1,5 | 1,0 | 0,5 |
| Tropfenzahl | 168 | 168 | 149 | 129 | 119 | 108 | 95,5 |
| $p_H$ (elektrom.) | 6,61 | 6,68 | 6,7 | 6,65 | 6,66 | 6,67 | 6,68 |

*Eichtabelle II.*

Phosphatpuffer . $p_H$ 6,5 ccm.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Eucupin 0,01 mol | 3 | 2 | 1 | 0,5 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| m/15 prim. Phosphat | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| m/15 sek. „ | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Destilliertes Wasser | 0 | 1 | 2 | 2,5 | 2,7 | 2,8 | 2,9 |
| Eucupin mg-Proz. | 150 | 100 | 50 | 25 | 15 | 10 | 5 |
| „ mg | 15 | 10 | 5 | 2,5 | 1,5 | 1,0 | 0,5 |
| Tropfenzahl | 169 | 165 | 148 | 129 | 119,5 | 110 | 96 |
| $p_H$ (elektrom.) | 6,36 | 6,42 | 6,51 | 6,53 | 6,53 | 6,55 | 6,55 |

Wasserwert der Pipette 92.

*Eichtabelle III.*

Acetatpuffer . $p_H$ 6,35 ccm.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Eucupin 0,01 mol | 3 | 2 | 1 | 0,5 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| n Na-Acetat | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| n/10 Essigsäure | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Destilliertes Wasser | 1 | 2 | 3 | 3,5 | 3,7 | 3,8 | 3,9 |
| Eucupin mg-Proz. | 150 | 100 | 50 | 25 | 15 | 10 | 5 |
| „ mg | 15 | 10 | 5 | 2,5 | 1,5 | 1 | 0,5 |
| Tropfenzahl | Gelbildung | | 157 | 142 | 126 | 110 | 98 |
| $p_H$ (elektrom.) | 6,35 | | | | | | |

Wasserwert der Pipette 92.

*Eichtabelle IV.*

Acetatpuffer . $p_H$ 6,35 ccm.

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Eucupin 0,01 mol | 1 | 0,75 | 0,6 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| n Na-Acetat | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| n/10 Essigsäure | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Destilliertes Wasser | 3 | 3,25 | 3,4 | 3,5 | 3,6 | 3,7 | 3,8 | 3,9 |
| Eucupin mg-Proz. | 50 | 37,5 | 30 | 25 | 20 | 15 | 10 | 5 |
| „ mg | 5 | 3,75 | 3,0 | 2,5 | 2,0 | 1,5 | 1,0 | 0,5 |
| Tropfenzahl | Gel | 150 | 141 | 138 | 131 | 123 | 118 | 101 |
| $p_H$ (elektrom.) | 6,35 | | | | | | | |

Wasserwert der Pipette 93.

*Eichtabelle V.*

Acetatpuffer . n-Acetat : n/10 n Essigsäure 4 : 1 ccm.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Eucupin 0,01 mol | 1 | 0,75 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| n-Na-Acetat + n/10 Essigsäure | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Destilliertes Wasser | 2 | 2,25 | 2,5 | 2,6 | 2,7 | 2,8 | 2,9 |
| Eucupin mg-Proz. | 50 | 37,5 | 25 | 20 | 15 | 10 | 5 |
| „ mg | 5 | 3,75 | 2,5 | 2 | 1,5 | 1 | 0,5 |
| Tropfenzahl | 151 | 142 | 138 | 130 | 124 | 118 | 105 |
| $p_H$ | 5,12 | | | | | | |

*Eichtabelle VI.*

Phosphatpuffer ccm.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Eucupin 0,01 mol | 2 | 1 | 0,75 | 0,5 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| m/15 prim. Phosphat | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| m/15 sek. „ | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| Destilliertes Wasser | 1 | 2 | 2,25 | 2,5 | 2,7 | 2,8 | 2,9 |
| Eucupin mg-Proz. | 100 | 50 | 37,5 | 25 | 15 | 10 | 5 |
| „ Proz. | 10 | 5 | 3,75 | 2,5 | 1,5 | 1 | 0,5 |
| Tropfenzahl | 167 | 167 | 150 | 138 | 127 | 114 | 90 |
| $p_H$ (elektrom.) | 6,6 | | | | | | |

Wasserwert der Pipette 93

## I. Eucupinlösung und Eucupingallerte.

### *a) Methodisches.*

In unseren Versuchen wurde das Eucupinum bihydrochlor., $C_{24}H_{34}N_2O_2 . 2\,HCl + 2\,H_2O$, verwandt (im folgenden kurz als „Eucupin" bezeichnet). Da die Mengen von Eucupin, mit denen wir zu arbeiten hatten, nur wenige Milligramme betrugen, schien die gravimetrische Bestimmung zu große Fehlerquellen in sich zu schließen.

Wir benutzten daher die oberflächenspannungserniedrigende Eigenschaft des Eucupins zur quantitativen Analyse. Es konnte gezeigt werden, daß bei gleichbleibendem $p_H$ die Größe der Erniedrigung der Oberflächenspannung einen sicheren Schluß auf die Konzentration des Eucupin. bihydrochlor. zuläßt. Die Messung der Oberflächenspannungserniedrigung wurde mit der von *Rona* und *Michaelis* angegebenen Tropfpipette ausgeführt.

*Tabelle I.*

Wasserwert der Tropfpipette 92.

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Eucupin 0,01 mol ccm | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | | 0,5 | 0,52 | 0,52 |
| n/10 Na-Acetat „ | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | n Na-Acetat | 5 | 5 | 5 |
| n/10 Essigsäure „ | 2 | 1 | 0,5 | 0,3 | 0,25 | | 1 | 0,5 | 0,25 |
| Dest. Wasser „ | 3,5 | 4,5 | 5,0 | 2,5 | 3,0 | | 3,5 | 4,0 | 4,25 |
| Eucupin mg-Proz. . . | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | | 25 | 26 | 26 |
| „ mg . . . . | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | | 2,5 | 2,6 | 2,6 |
| Tropfenzahl . . . . | 103 | 108,5 | 109,5 | 109 | 110,5 | | 129 | 131 | 128,5 |
| $p_H$ (elektrom.) . . . | 4,86 | 5,16 | 5,45 | 5,63 | 5,73 | | 6,36 | 6,74 | 7,1 |

Die Tabelle zeigt die Abhängigkeit der Oberflächenspannungserniedrigung von $p_H$ bei gleichbleibender Eucupinkonzentration.

In den Eichtabellen S. 162 sind die Tropfwerte wiedergegeben, die bei gleichem $p_H$ und wechselnder Eucupinkonzentration bei Zimmertemperatur mit völliger Regelmäßigkeit gefunden wurden. Die Fehlergrenze betrug dabei 1 Tropfen. Es stellte sich als notwendig heraus, gesonderte Eichtabellen aufzustellen, einmal für Phosphat- und Acetatpuffer, dann für die verschiedenen in den Versuchen vorkommenden $H^{\cdot}$-Konzentrationen. Bei den einzelnen Versuchen ist jeweils darauf hingewiesen, welche Eichtabelle Gültigkeit hat. — Auch in den Eucupingelen ließ sich die Eucupinkonzentration durch die Tropfenzählmethode mit großer Genauigkeit ermitteln. Das Gel wird erwärmt; dabei entsteht eine äußerlich homogene Lösung, von der ein aliquoter Teil abgenommen und mit dem entsprechenden Puffergemisch auf ein Volumen von 10 ccm gebracht wird. Es hat sich gezeigt, daß es nicht gleichgültig ist, mit welcher Flüssigkeit man diese Verdünnung vornimmt, sondern daß man, um genaue Resultate zu erhalten, nur mit dem ursprünglich verwandten Puffergemisch auf das entsprechende Volumen auffüllen darf.

### *b) Dialysierversuche mit Eucupinlösungen.*

1. Orientierende Versuche wurden an Eucupin. bihydrochlor.[1])-Lösungen angestellt, die mit gleichen Teilen primärem und sekundärem Phosphat angestellt waren.

---

[1]) In den Tabellen mit E. bezeichnet. Ferner bedeuten in den Tabellen Tz. Tropfenzahl, Fl. Flüssigkeit.

*1. Versuch. Innenflüssigkeit:* m/100 Eucupin. bihydrochlor. 2 ccm; m/15 sekundäres und primäres Phosphat, je 3,5 ccm; destilliertes Wasser 1,0 ccm. *Außenflüssigkeit:* 10 ccm destilliertes Wasser. $p_H$ (elektrometrisch) 6,6. Dialyse 24 Stunden. Dialysierhülsen: Kollodiummembran. Berechnung nach Eichtabelle I.

*2. Versuch.* Anordnung wie in Versuch 1.

*Tabelle zu Versuch 1.*

| Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | | | Nicht wiedergefundenes E. in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| innen | | | außen | | innen | | | | außen | | | | |
| Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | |
| 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 113 | 1,23 | 12,3 | 10 | 114,5 | 1,48 | 14,5 | 73,2 |
| 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10,5 | 114 | 1,33 | 12,7 | 9,5 | 107 | 0,91 | 9,6 | 77,7 |
| 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10,5 | 118 | 1,52 | 14,5 | 9,5 | 116 | 1,30 | 13,7 | 71,8 |

*Tabelle zu Versuch 2.*

| Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | Nicht wiedergefundenes E. in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 116 | 1,37 | 13,7 | 10 | 115 | 1,32 | 13,2 | 73,1 |
| 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 117 | 1,41 | 14,1 | 10 | 117 | 1,41 | 14,1 | 71,8 |
| 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 122,5 | 1,8 | 18,0 | 10 | 119 | 1,5 | 15 | 67 |

Diese beiden Versuche zeigen, daß bei Berücksichtigung der in der Methode liegenden Fehler die Eucupinkonzentration innen und außen gleich ist. Es ist jedoch bemerkenswert, daß durchschnittlich nur etwa 25 Proz. der ursprünglichen Eucupinmenge wiedergefunden wurden.

2. Dieses Verhalten glaubten wir auf die Adsorption des Eucupins an der Kollodiummembran zurückführen zu müssen. Die folgenden Versuche bestätigen diese Annahme.

*3. Versuch.* Innen- und Außenflüssigkeit von gleicher Zusammensetzung: m/100 Eucupin. bihydrochlor. 2 ccm; m/15 primäres und sekundäres Phosphat, je 3,5 ccm; destilliertes Wasser 10 ccm. $p_H$ 6,6. Dialyse 24 Stunden. Kollodiummembran. Berechnung nach Eichkurve I.

*Tabelle zu Versuch 3.*

| Vor der Dialyse | | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | Nicht wiedergefundenes E. in Proz. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| innen | | | außen | | | innen | | | außen | | | | |
| Fl. ccm | E. mg | Tz. | Fl. ccm | E. mg | Tz. | Fl. ccm | E. mg | Tz. | Fl. ccm | E. mg | Tz. | innen | außen |
| 10 | 10 | 169 | 10 | 10 | 169 | 10 | 3,7 | 138 | 10 | 3,7 | 137,5 | 63 | 63 |
| 10 | 10 | 168 | 10 | 10 | 168 | 10 | 2,5 | 129 | 10 | 3,9 | 140 | 75 | 61 |
| 10 | 10 | 169 | 10 | 10 | 169 | 10 | 2,8 | 131 | 10 | 2,9 | 132 | 72 | 71 |

Kontrolle im Reagenzglas mit der gleichen Eucupinkonzentration wie die dialysierte Flüssigkeit ergibt 169 Tropfen, nach 24 Stunden 169 Tropfen.

Man sieht also, daß bei gleichmäßig zusammengesetzter Innen- und Außenflüssigkeit nach 24stündiger Dialyse der Eucupingehalt sowohl der Innen- wie der Außenflüssigkeit gleichsinnig um etwa 65 Proz. abgenommen hat. Da dieselbe Eucupinlösung im Reagenzglase nach 24 Stunden keine Änderung der Konzentration zeigt, muß angenommen werden, daß die Membran das Eucupin adsorbiert hat.

Es galt nun zu entscheiden, von welchen Faktoren diese Membranadsorption abhängig ist. Dabei mußte zunächst dem Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration nachgegangen werden. Aus diesem Grunde wurde Versuch 4 an der ungepufferten wässerigen Eucupinbihydrochlor.-Lösung angestellt; diese ist stark sauer und hat ein $p_H$ von etwa 3,5 bis 4.

*4. Versuch. Innenflüssigkeit:* m/100 Eucupin. bihydrochlor. 10 ccm. *Außenflüssigkeit:* 10 ccm destillierten Wassers. Dialyse 24 Stunden. $p_H$ der Innenflüssigkeit (elektrometrisch) 3,5. Dialysierhülsen: Kollodiummembranen. Zur Eucupinbestimmung in der Innen- und Außenflüssigkeit nach der Dialyse wird von beiden je 1 ccm mit 3,5 ccm m/15 primärem Phosphat und 3,5 ccm m/15 sekundärem Phosphat, dann mit 2 ccm destilliertem Wasser versetzt und die Tropfenzahl (in der Tabelle unter Tz.) ermittelt. Berechnung nach Eichkurve I.

*Tabelle zu Versuch 4.*

| Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | | | Differenz des E. nach der Dialyse gegenüber der Ursprungslösung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| innen | | | außen | | innen | | | | außen | | | | |
| Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Tz. | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Tz. | |
| 10 | 50 | 500 | 10 | — | 11 | 31,9 | 290 | 133 | 9 | 21,4 | 240 | 128 | + 6,6 Proz. |
| 10 | 50 | 500 | 10 | — | 12,5 | 34 | 280 | 132 | 7,5 | 21,0 | 280 | 132 | + 10 „ |
| 10 | 50 | 500 | 10 | — | 13 | 30,8 | 280 | 132 | 7 | 18,2 | 260 | 130 | — 2 „ |

Der Versuch zeigt, daß bei diesem niedrigen $p_H$ die Innen- und Außenkonzentration nicht nur gleich ist, sondern daß die Summe des nach der Dialyse innen und außen wiedergefundenen Eucupins der ursprünglich verwandten Menge entspricht.

In den beiden folgenden Versuchen wird die Abhängigkeit der Membranadsorption von dem $p_H$ noch deutlicher.

*5. Versuch.* Dialyse 24 Stunden. Dialysierhülse: Kollodiummembran. *Außenflüssigkeit:* 10 ccm destillierten Wassers. *Innenflüssigkeit:* a) m/100 Eucupin. bihydrochlor. 4 ccm, destilliertes Wasser 6 ccm, $p_H$ (elektrometrisch) 3,9; b) m/100 Eucupin. bihydrochlor. 4 ccm, m/15 primäres Phosphat 4,75 ccm, m/15 sekundäres Phosphat 0,25 ccm, destilliertes Wasser 1,0 ccm, $p_H$ (elektrometrisch) 5,0; c) m/100 Eucupin. bihydrochlor. 4 ccm, m/15 primäres Phosphat 3 ccm, m/15 sekundäres Phosphat 3 ccm, $p_H$ (elektrometrisch) 6,6.

Die Eucupinbestimmung nach der Dialyse wird vorgenommen, indem die Hälfte der Innen- und Außenflüssigkeit von a mit gleichen Teilen m/15

primären und sekundären Phosphats auf 10 ccm gebracht wird. Tropfenzahl der Innenflüssigkeit a = 149, der Außenflüssigkeit a = 147 (in halber Verdünnung). Bei b wird die Hälfte der Innen- und Außenflüssigkeit durch Zusatz von m/15 sekundärem Phosphat auf ein $p_H$ von 6,5 gebracht. Tropfenzahl (in halber Verdünnung) innen 130, außen 129. Bei c wird die Innen- und Außenflüssigkeit zur Hälfte mit Wasser verdünnt. Tropfenzahl (in halber Verdünnung) innen 115, außen 113. Berechnung nach Eichtabelle I.

*6. Versuch.* Anordnung wie im Versuch 5. Tropfenzahl (in halber Verdünnung) in a: innen 149, außen 145; in b: innen 135, außen 138: in c: innen 109, außen 108.

*Tabelle zu Versuch 5.*

| | Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | $p_H$ | Nicht wiedergefundenes E. in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | außen | | innen | | | außen | | | | |
| | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E. | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E mg | E. mg-Proz. | innen | |
| a | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 11 | 10 | 90 | 9 | 10 | 110 | 3,9 | 0 |
| b | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 5,1 | 51 | 10 | 5 | 50 | 5,0 | 49,5 |
| c | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10,5 | 2,3 | 22 | 9,5 | 2,5 | 26,3 | 6,5 | 76 |

*Tabelle zu Versuch 6.*

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 11 | 10 | 91 | 9 | 9 | 100 | 4,0 | 5 |
| b | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 6,4 | 64 | 10 | 7,2 | 72 | 5,0 | 32 |
| c | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 11 | 2,0 | 18,2 | 11 | 2,0 | 18,2 | 6,6 | 81,8 |

Man sieht also: Die Membranadsorption nimmt mit steigendem $p_H$ zu. Bei der stark sauren Reaktion der ungepufferten Lösung ist sie verschwindend klein; bei einem $p_H$ von 6,5 adsorbiert die Membran etwa 75 Proz. der gesamten Eucupinmenge.

3. Es war nun weiter zu untersuchen, welchen Einfluß die Art der Membran auf den Adsorptionsvorgang ausübt. Die Versuche 7 und 8 zeigen genau die gleiche Anordnung wie die Versuche 5 und 6. mit dem Unterschied, daß hier statt der Kollodiumhülsen Schleicher-Schüllhülsen verwandt wurden.

*Tabelle zu Versuch 7.*

| | Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | $p_H$ | Nicht wiedergefundenes E. in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | außen | | innen | | | außen | | | | |
| | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E. | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | innen | |
| a | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 9,6 | 96 | 10 | 9,6 | 96 | 4,0 | 4 |
| b | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 9 | 90 | 10 | 10 | 100 | 5,0 | 5 |
| c | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 5,2 | 49 | 10 | 4,0 | 42,1 | 6,5 | 54 |

*Tabelle zu Versuch 8.*

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 10 | 100 | 10 | 10 | 100 | 4,0 | 0 |
| b | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 9 | 90 | 10 | 9,5 | 95 | 5,0 | 7,5 |
| c | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 4,5 | 41 | 9 | 6 | 66,6 | 6,5 | 46,2 |

*7. Versuch.* Dialyse 48 Stunden in Schleicher-Schüllhülsen. Anordnung wie in Versuch 5. Tropfenzahl (in halber Verdünnung) in a: innen 147, außen 147; in b: innen 145, außen 149; in c: innen 130, außen 125.

*8. Versuch.* Dialyse 24 Stunden in Schleicher-Schüllhülsen. Anordnung wie im Versuch 5. Tropfenzahl (in halber Verdünnung) in a: innen 149, außen 145; in b: innen 135, außen 138; in c: innen 109, außen 108.

Das Ergebnis der zwei letzten Versuchsreihen stimmt mit dem der früheren überein. Stets findet sich eine Zunahme der Membranadsorption mit steigendem $p_H$. Es zeigt sich jedoch, daß Kollodiummembranen ein offenbar wesentlich höheres Adsorptionsvermögen für Eucupin haben als die Schleicher-Schüllhülsen.

Eine Übersicht darüber gibt die folgende Tabelle:

Übersichtstabelle über Membranadsorption von Eucupin bei verschiedenem $p_H$ und verschiedenen Membranen.

| $p_H$ | Kollodium | | Schleicher-Schüll | |
|---|---|---|---|---|
| | adsorbiertes Eucupin in Proz. | | | |
| 4,0 | 0 | 5 | 4 | 0 |
| 5,0 | 49,5 | 32 | 5 | 7,5 |
| 6,0 | 76 | 80 | 54 | 46,2 |
| | Versuch 5 | Versuch 6 | Versuch 7 | Versuch 8 |

4. Die beiden folgenden Versuche sollten entscheiden, ob die Höhe der Eucupinkonzentration einen Einfluß auf die Membranadsorption ausübt.

*9. Versuch.* Dialyse 24 Stunden in Schleicher-Schüllhülsen $p_H$ 6,5. *Außenflüssigkeit:* 10 ccm destilliertes Wasser. *Innenflüssigkeit:* in a: m/100 Eucupin 1 ccm, m/15 primäres und sekundäres Phosphat (1:1) 9 ccm; in b: m/100 Eucupin 2 ccm, m/15 primäres und sekundäres Phosphat (1:1) 8 ccm; in c: m/100 Eucupin 4 ccm, m/15 primäres und sekundäres Phosphat (1:1) 6 ccm.

*10. Versuch.* Dialyse 48 Stunden. Anordnung wie im Versuch 9. Berechnung nach Eichtabelle I.

*Tabelle zu Versuch 9.*

| | Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | | | Adsorbiertes Eucupin in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | außen | | innen | | | | außen | | | | |
| | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | |
| a | 10 | 5 | 50 | 10 | — | 10 | 122 | 1,8 | 18 | 10 | 112 | 1,15 | 11,5 | 41 |
| b | 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 136 | 3,4 | 34 | 10 | 125 | 2,1 | 21 | 45 |
| c | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 150 | 5,0 | 50 | 10 | 143 | 4,25 | 42,5 | 54 |

*Tabelle zu Versuch 10.*

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 10 | 5 | 50 | 10 | — | 10 | 123 | 1,9 | 19 | 10 | 120 | 1,6 | 16 | 30 |
| b | 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 138 | 3,6 | 36 | 10 | 136 | 3,4 | 34 | 30 |
| c | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 152 | 5,6 | 56 | 10 | 146 | 4,7 | 47 | 48,5 |

Auf Grund dieser beiden Versuche müssen wir annehmen, daß die Höhe der Eucupinkonzentration ohne wesentlichen Einfluß auf die Membranadsorption ist. Auffallenderweise scheint sogar mit steigender Eucupinkonzentration — wenigstens in der von uns untersuchten Variationsbreite — eher eine Zunahme der Membranadsorption einzutreten.

5. Es war nun zu überlegen, ob es möglich wäre, die Membranadsorption zu verhindern. In der folgenden Versuchsreihe suchten wir dieses Ziel zu erreichen, indem wir die Dialysenmembranen mit der gleichen Eucupinpufferlösung vorbehandelten, wie sie später im Dialysierversuche angewandt werden sollte.

*11. Versuch. Innenflüssigkeit:* m/100 Eucupin 4 ccm, m/15 primäres und sekundäres Phosphat (1:1) 6 ccm. *Außenflüssigkeit:* 10 ccm destilliertes Wasser. $p_H$ 6,6. Dialyse 20 Stunden. Dialysiermembranen: Kollodiumhülsen, die in einer 200 mg-proz. Eucupinphosphatlösung ($p_H$ 6,6) gelegen hatten, und zwar Dialysierhülse c: 24 Stunden, b: 8 Stunden, a: Kontrolle 0 Stunden.

*12. Versuch.* Anordnung wie im Versuch 11. Die beiden Kollodiumhülsen haben 96 Stunden in der Sättigungslösung gelegen.

*13. Versuch. Innenflüssigkeit:* m/100 Eucupin 8 ccm, m/15 primäres und sekundäres Phosphat (1:1) 8 ccm. *Außenflüssigkeit:* 10 ccm destilliertes Wasser. $p_H$ 6,6. Dialyse 24 Stunden. Dialysiermembranen: Schleicher-Schüllhülsen. a und b haben 96 Stunden in einer 100 mg-proz. Eucupinlösung ($p_H$ 6,3) gelegen. c: Kontrolle.

*Tabelle zu Versuch 11.*

| | Dauer der Sättigung | Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | | | Adsorbiertes Eucupin in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | innen | | | außen | | innen | | | | außen | | | | |
| | | Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E. | Fl ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | |
| a | 0h | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 118 | 1,45 | 14,5 | 10 | 115 | 1,3 | 13 | 86 |
| b | 8 | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 142 | 4,2 | 42 | 10 | 140 | 3,9 | 39 | 59 |
| c | 24 | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 149 | 5 | 50 | 10 | 144 | 4,5 | 45 | 52 |

*Tabelle zu Versuch 12.*

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 96h | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 154 | 6,7 | 67 | 10 | 149 | 5 | 50 | 41,5 |
| b | 96 | 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 144 | 4,4 | 44 | 10 | 146 | 4,6 | 46 | 55 |

*Tabelle zu Versuch 13.*

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 96h | 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 146 | 4,6 | 46 | 10 | 137 | 3,5 | 35 | 19 |
| b | 96 | 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 149 | 5,0 | 50 | 10 | 140 | 3,9 | 39 | 11 |
| c | 96 | 10 | 10 | 100 | 10 | — | 10 | 136 | 3,4 | 34 | 10 | 125 | 2,1 | 21 | 45 |

Wir sehen aus diesen Versuchen, daß es durch das Vorbehandeln der Membran gelingt, die Membranadsorption um einen wesentlichen Prozentsatz herabzudrücken. Immerhin war trotz einer 96stündigen Vorbehandlung mit den zu dialysierenden Lösungen eine völlige Membransättigung noch nicht erreicht.

Als Zusammenfassung der bisherigen Versuche können wir sagen: Bei der Dialyse von Eucupinlösungen tritt eine Membranadsorption

auf. Diese ist abhängig von dem $p_H$ und der Art der Membran, unabhängig von der Höhe der Eucupinkonzentration. Bis zu einem gewissen Grade kann man sie durch Sättigung der Membran überwinden. Gelingt es aber, die Membranadsorption auszuschließen, so verhalten sich die Eucupinlösungen in der Dialyse wie echte Lösungen.

*c) Verhalten des Eucupingels.*

*15. Versuch.* *Innenflüssigkeit:* m/100 Eucupin 4 ccm, n Na-Acetat 5 ccm, n/10 Essigsäure 1 ccm. Die Innenflüssigkeit erstarrt sofort zu einer steifen Gallerte. *Außenflüssigkeit:* n Na-Acetat: n/10 Essigsäure (5:1) 10 ccm. Dialyse 24 Stunden. $p_H$ 6,35. Schleicher-Schüllhülsen. Nach der Dialyse wird der Inhalt der Dialysierhülse erwärmt, 1 ccm mit 9 ccm Acetatpuffer verdünnt und die Tropfenzahl gemessen. Eichtabelle III.

*16. Versuch.* Anordnung wie im Versuch 15. Eichtabelle IV.

*17. Versuch.* *Innenflüssigkeit:* m/100 Eucupin 4 ccm, n Na-Acetat, n/10 Essigsäure (4:1) 6 ccm. *Außenflüssigkeit:* n Na-Acetat, n/10 Essigsäure (4:1) 6 ccm. Destilliertes Wasser 4 ccm. $p_H$ 5,2. Dialyse 24 Stunden. Schleicher-Schüllhülsen. Nach der Dialyse wird der Inhalt der Dialysierhülsen erwärmt, 2 ccm davon mit 8 ccm Acetatpuffer verdünnt, die Tropfenzahl gemessen. Eichtabelle V.

*18. Versuch.* Anordnung wie im Versuch 17.

*Tabelle zu Versuch 15.*

| Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | | | Membranadsorption |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | innen | | | | außen | | | | |
| Fl. ccm | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | E. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | Fl. ccm | Tz. | E. mg | E. mg-Proz. | Proz. |
| 10 | 20 | 200 | 10 | — | 9,5 | 108 | 9,2 | 92 | 9 | 127 | 1,6 | 16 | 50 |
| 10 | 20 | 200 | 10 | — | 9 | 113 | 11 | 110 | 9 | 124 | 1,4 | 14,5 | 50 |

*Tabelle zu Versuch 16.*

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 109 | 10 | 100 | 10 | 120 | 1,5 | 15 | 50 |
| 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 106 | 9 | 90 | 10 | 124 | 1,9 | 19 | 50 |

*Tabelle zu Versuch 17.*

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 140 | 15,6 | 156 | 10 | 137 | 2,45 | 24,5 | — |

*Tabelle zu Versuch 18.*

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 20 | 200 | 10 | — | 10 | 140 | 15,5 | 155 | 10 | 141 | 3,41 | 34,1 | — |

Die Versuche 15 und 16 sind bei einem $p_H$ von 6,35 angestellt, bei dem, wie im vorhergehenden gezeigt wurde, die Membranadsorption etwa 50 Proz. beträgt. Bei den Versuchen 17 und 18 ($p_H$ 5,2) müssen wir sie mit etwa 6 Proz. in Rechnung setzen. Berücksichtigen wir das, so zeigen die vier Versuche übereinstimmend, daß nach der Dialyse sich etwa 20 Proz. der ursprünglichen Eucupinmenge in der Außenflüssigkeit findet. Dieser Konzentration von dialysablem Eucupin in der Außenflüssigkeit muß die gleiche Konzentration innerhalb der Membran entsprechen. Wir müssen uns also vorstellen, daß das Eucupin-

gel aus einem kolloidalen — nicht diffusiblen — und einem echt gelösten Anteil besteht. Nach unseren Versuchen würden etwa 60 Proz. des Eucupingels kolloidalen Charakter haben.

### II. Versuche an Uratgallerten.

1. Die folgenden Versuche wurden an Uratgallerten angestellt. Die Darstellung des Harnsäuregels erfolgte nach den Angaben von *Keeser* und *Zocher*: Zu siedendem LiOH wird portionsweise reine Harnsäure in Substanz zugefügt, bis eine deutlich wahrnehmbare Opaleszenz entsteht. Dann wird die noch heiße Lösung filtriert. Nach einer gewissen Zeit, die abhängig ist von der Konzentration sowohl des LiOH wie der Harnsäure und von der Temperatur der Umgebung erstarrt die Lösung zu einer Gallerte. Ihr Aussehen ist bei verschieden konzentrierten Ausgangslösungen verschieden. Eine ausführlichere Beschreibung dieser Verhältnisse findet sich bei *Keeser* und *Zocher*, deren Angaben wir bestätigen können. Für unsere Zwecke schien es am zweckmäßigsten, mit einer möglichst gleichmäßigen Gallerte zu arbeiten, wie man sie erhält, wenn man eine etwa 0,2 n LiOH verwendet.

Bei unseren Versuchen gingen wir so vor, daß wir nach Filtration der heißen Lösung mit der Pipette gleiche Mengen auf die Dialysierhülsen verteilten. Der für die quantitative Analyse bestimmte Teil (im allgemeinen 10 ccm) wurde in einem Meßkolben verdünnt und nach dem Erkalten auf 100 ccm aufgefüllt. Die Dialysierhülsen wurden in den Eisschrank gestellt und erst dann mit der Dialyse begonnen, wenn der Inhalt zu einer steifen Gallerte geworden war. Es ist bemerkenswert, daß die Gelbildung in der Dialysiermembran wesentlich langsamer vor sich geht als im Reagenzglas. Nach der Dialyse wurde der Inhalt der Dialysierhülse mit Hilfe eines Glasstabes möglichst quantitativ in ein Becherglas entleert, mit Wasser verdünnt und zum Sieden erhitzt. Hierdurch konnte das Gel wieder völlig in eine Lösung verwandelt werden, die filtriert und nach dem Erkalten auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt wurde. Findet sich in den Versuchen eine Differenz zwischen Harnsäuremenge in der Ursprungslösung und Harnsäuremenge in der Innen- + Außenflüssigkeit nach der Dialyse, so muß man den Verlust der Innenflüssigkeit zurechnen, da ein absolut quantitatives Herausschälen des Gels nicht immer gelingt. Die Behandlung der Außenflüssigkeit gestaltete sich so, daß man diese aufkochte, um auch hier die manchmal ausgefallene Harnsäure wieder in Lösung zu bringen, filtrierte und auf ein bestimmtes Volumen (meist 25 bis 30 ccm) auffüllte.

Für die quantitativen Bestimmungen der betreffenden Lösungen hatten wir demnach homogene Lösungen, die wenigstens in der Zeit, die für die sofort vorgenommenen Analysen in Frage kam, keine Veränderungen zeigten. Nach 24 Stunden hatte sich in ihnen meist eine flockiger Niederschlag gebildet, offenbar von ausgefallener Harnsäure bzw. Urat herrührend. Bestimmt wurden Harnsäure (Mikro-N-Bestimmung nach *Bang*) und Lithium (als Sulfat).

In den Vorversuchen beschränkten wir uns darauf, den N-Gehalt, d. h. die Harnsäurekonzentration in der Innen- und Außenflüssigkeit zu ermitteln.

*19. Versuch.* Dialyse 24 Stunden. *Innenflüssigkeit:* Uratgel mit 306,6 mg Harnsäure. *Außenflüssigkeit:* 10 ccm destilliertes Wasser. Schleicher-Schüllhülsen.

*Tabelle zu Versuch 19.*

| | Vor der Dialyse | | | | Nach der Dialyse | | | | | | Fehler |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | außen | | innen | | | außen | | | |
| | Fl. ccm | U. mg | Fl. ccm | U. | Fl. ccm | U. mg | U., Proz. der Gesamtmenge | Fl. ccm | U. mg | U., Proz. der Gesamtmenge | Proz. |
| a | 10 | 306,6 | 10 | — | Gel | 238,1 | 77,8 | 10 | 69,36 | 22,6 | 0,4 |
| b | 10 | 306,6 | 10 | — | „ | 241,4 | 78,8 | 10 | 68,12 | 22,3 | 1,1 |

*20. Versuch.* Dialyse 24 Stunden. Schleicher-Schüllhülsen. Innen: Uratgel. Außen: 10 ccm destilliertes Wasser.

*Tabelle zu Versuch 20.*

| | Vor der Dialyse | | | | Nach der Dialyse | | | | | | Fehler |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | außen | | innen | | | außen | | | |
| | Fl. ccm | U. mg | Fl. ccm | U. | Fl. | U. mg | U., Proz. der Gesamtmenge | Fl. | U. mg | U., Proz. der Gesamtmenge | Proz. |
| a | 10 | 356,3 | 10 | — | Gel | 229,7 | 64,3 | 10 | 72,4 | 20,2 | —15,5 |
| b | 10 | 356,3 | 10 | — | „ | 260,3 | 73 | 10 | 65,7 | 18,3 | — 8,7 |

Die beiden Versuche zeigen, daß nach der Dialyse etwa 20 Proz. der Gesamtmenge der Harnsäure in der Außenflüssigkeit vorhanden sind. Das Harnsäuregel besteht demnach, ganz wie das Eucupingel, aus einem kolloidalen, nicht diffusiblen und einem dialysablen Anteil. Man muß annehmen, daß im Harnsäuregel die Harnsäure bzw. das Urat zu 60 Proz. in kolloidaler Form vorhanden ist.

2. In den folgenden Versuchen wurde Harnsäure- und Lithiumgehalt von Innen- und Außenflüssigkeit berücksichtigt.

In den Versuchen 21 bis 23 wurden durch Veränderung der U-Konzentration bei etwa gleichbleibendem Li-Gehalt die Bedingungen der Gelbildung nach Möglichkeit variiert. Versuch 21 stellt dabei die obere, Versuch 22 die untere Grenze der Harnsäurekonzentration dar, bei der es — gleichen Li-Gehalt vorausgesetzt — zur Gelbildung kommt. Sucht man die U-Konzentration zu steigern, so fällt die Harnsäure aus, hält man sie geringer, ergeben sich Verhältnisse, denen in Versuch 26 und 27 weiter nachgegangen wurde.

*21. Versuch.* Dialyse 24 Stunden. Schleicher-Schüllhülsen. Innen: Uratgallerte. Außen: 10 ccm destilliertes Wasser (doppelt — a und b — angesetzt).

*22. Versuch.* Dialyse in a und b: 48 Stunden, in c: 6 Tage. Schleicher-Schüllhülsen. Innen: Uratgallerte. Außen: 10 ccm destilliertes Wasser (dreifach — a, b, c — angesetzt).

*23. Versuch.* Dialyse in a und b: 24 Stunden, in c: 11 Tage. Schleicher-Schüllhülsen. Innen: Uratgallerte. Außen: 10 ccm destilliertes Wasser ($p_H$ außen nach der Dialyse 8,6).

*Tabelle I für Versuche 21 bis 23.*

Harnsäure und Lithium in Milligrammen.

| | Vor der Dialyse | | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | Fehler in Proz. | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | außen | | | innen | | | außen | | | | |
| | Fl. ccm | U. mg | Li. mg | Fl. ccm | U. mg | Li. mg | Fl. ccm | U. mg | Li. mg | Fl. ccm | U. mg | Li. mg | U. | Li. |
| 21 a | 10 | 391 | 16 | 10 | — | — | Gel | 335 | 10 | 10 | 63,4 | 3,9 | + 1,7 | — 13,2 |
| 21 b | 10 | 391 | 16 | 10 | — | — | „ | 328 | 12 | 10 | 72,8 | 4,3 | + 2,5 | + 1,8 |
| 22 a | 10 | 337,7 | 15,3 | 10 | — | — | „ | 238,6 | 10,9 | 10 | 76,7 | 3,1 | — 6,1 | — 8,5 |
| 22 b | 10 | 337,7 | 15,3 | 10 | — | — | „ | 246,5 | 11 | 10 | 82,5 | 3,5 | — 2,4 | — 5,3 |
| 22 c | 10 | 337,7 | 15,3 | 10 | — | — | „ | 278,0 | 10,6 | 10 | 75,1 | 2,9 | + 4,7 | — 11,8 |
| 23 a | 10 | 366,6 | 14,6 | 10 | — | — | „ | 298,2 | 9,27 | 10 | 72,7 | 3,2 | + 1,1 | — 14,6 |
| 23 b | 10 | 366,6 | 14,6 | 10 | — | — | „ | 310,4 | 11,04 | 10 | 62,1 | 2,9 | + 1,7 | — 4,5 |
| 23 c | 10 | 366,6 | 14,6 | 10 | — | — | „ | 300,3 | 11,17 | 10 | 59,1 | 2,7 | — 1,8 | — 5 |

*Tabelle II für Versuche 21 bis 23.*

Konzentration in Molarität.

| | Vor der Dialyse | | | | Nach der Dialyse | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | außen | | innen | | außen | |
| | U. | Li. | U. | Li. | U. | Li. | U. | Li. |
| 21 a | 0,23 | 0,23 | — | — | 0,20 | 0,14 | $0,03_7$ | 0,05 |
| 21 b | 0,23 | 0,23 | — | — | 0,19 | 0,17 | $0,04_3$ | 0,06 |
| 22 a | 0,20 | 0,22 | — | — | 0,14 | 0,16 | $0,04_5$ | 0,04 |
| 22 b | 0,20 | 0,22 | — | — | $0,14_4$ | 0,16 | $0,04_9$ | 0,05 |
| 22 c | 0,20 | 0,22 | — | — | 0,16 | 0,15 | $0,04_4$ | 0,04 |
| 23 a | $0,21_6$ | 0,21 | — | — | 0,17 | 0,13 | $0,04_3$ | 0,05 |
| 23 b | $0,21_6$ | 0,21 | — | — | 0,18 | 0,16 | $0,03_7$ | 0,04 |
| 23 c | $0,21_6$ | 0,21 | — | — | $0,17_7$ | 0,16 | $0,03_5$ | 0,04 |

*Tabelle III für Versuche 21 bis 23.*

Harnsäure und Lithium nach der Dialyse in Prozenten der Gesamtmenge (vor der Dialyse).

| | Innen | | Außen | |
|---|---|---|---|---|
| | U. | Li. | U. | Li. |
| 21 a | 85,8 | 62,5 | 16,2 | 24,3 |
| 21 b | 83,8 | 75,0 | 18,6 | 26,8 |
| 22 a | 70,8 | 71,2 | 22,5 | 20,2 |
| 22 b | 73,1 | 71,8 | 24,5 | 22,8 |
| 22 c | 82,3 | 69,3 | 22,5 | 18,9 |
| 23 a | 81,2 | 63,5 | 19,8 | 21,9 |
| 23 b | 84,5 | 75,7 | 17,2 | 19,8 |
| 23 c | 81,8 | 76,5 | 16,1 | 18,5 |

Die Versuche 21 bis 23 zeigen zunächst, daß Änderung der Harnsäurekonzentration — in den experimentell gegebenen Grenzen — kein prinzipiell verschiedenes Verhalten der Uratgallerten bei der Dialyse verursacht. Die in den Versuchen 19 und 20 ermittelte Tatsache, daß etwa 40 Proz. des Harnsäuregels diffusibel ist, findet sich auch hier wieder bestätigt.

In der Außenflüssigkeit finden wir Harnsäure und Lithium (fast) in gleichen molaren Konzentrationen. Wo das in den Versuchen zahlenmäßig nicht völlig zutrifft, handelt es sich wohl um durch die Methode bedingte Fehler. Das Gel besteht im wesentlichen aus Lithiumurat.

Die Versuche 22c und 23c sind noch dadurch bemerkenswert, daß bei ihnen die Dialyse 6 bzw. 11 Tage dauerte (in den Versuchen a und b nur 24 bzw. 48 Stunden). Die Versuche c zeigen gegenüber a und b keine Abweichung. Es hat sich also bereits nach 24 Stunden ein Gleichgewicht eingestellt, das durch die Zeit nicht geändert wird.

3. War so das Verhalten des Harnsäuregels in der Dialyse einigermaßen klargestellt, so interessierte nunmehr die Frage, welche Besonderheiten bei den gleichen Versuchsbedingungen diejenigen Lithiumuratlösungen zeigten, bei denen die Harnsäurekonzentration nicht so groß war, daß eine Gelbildung eintrat. Es sind diejenigen Zustände, die von dem einen als Sole (*Schade*), von dem anderen (*Kohler*) als übersättigte Lösungen betrachtet werden.

Im Versuche 24 wählten wir die Harnsäurekonzentration so niedrig, daß wenigstens während unserer Versuchsdauer kein sichtbarer Niederschlag von Harnsäure auftrat.

*24. Versuch.* Dialyse in a: 48 Stunden, in b: 72 Stunden. Schleicher-Schüllhülsen. Innenflüssigkeit: Harnsäurelithium. Außenflüssigkeit: destilliertes Wasser.

*Tabelle zu Versuch 24.*

| | Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | außen | | innen | | | außen | | | |
| | Fl. ccm | U. | Li | Fl. ccm | U., Li | Fl. ccm | U. | Li | Fl. ccm | U. | Li | |
| a | 10 | 181,8 | 13,7 | 10 | — | 10 | 81,9 | 6,3 | 10 | 79,17 | 6,2 | Menge in mg |
| | | $0,10_6$ | 0,19 | | | | 0,048 | 0,09 | | 0,047 | 0,09 | Konzentr. in Mol |
| | | 1818 | 137 | | | | 819 | 63 | | 791 | 62 | Konzentr. i. Proz. |
| b | 10 | 181,8 | 13,7 | 10 | — | 11 | 94,59 | 8,6 | 9 | 80,01 | 5,5 | Menge in mg |
| | | $0,10_6$ | 0,19 | | | | 0,05 | 0,11 | | $0,05_2$ | 0,08 | Konzentr. in Mol |
| | | 1818 | 137 | | | | 859 | 78,1 | | 887 | 62 | Konzentr. i. Proz. |

Es zeigt sich, daß nach der Dialyse gleiche Konzentration an Harnsäure zu beiden Seiten der Membran herrscht.

Da es in diesem Versuche nicht sicher zu sagen war, ob eine stabile übersättigte Lösung vorlag, so wählten wir die Anordnung im Versuche 25 so, daß wir es mit einer sicher übersättigten Lösung zu tun hatten. Dementsprechend fiel auch während des Versuches Harnsäure bzw. Urat kristallinisch aus. Dieser Niederschlag wurde abfiltriert, so daß nur derjenige Teil des Lithiumurats zur Untersuchung kam, der in (echter oder kolloidaler) Lösung vorhanden war.

*25. Versuch.* Dialyse 24 Stunden. Schleicher-Schüllhülsen. *Innenflüssigkeit:* Uratlösung. *Außenflüssigkeit:* destilliertes Wasser ($p_H$ nach der Dialyse 9,1).

*Tabelle zu Versuch 25.*

| | Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | außen | | innen | | | außen | | |
| | Fl. ccm | U. | Li | Fl. ccm | U., Li | Fl. ccm | U. | Li | Fl. ccm | U. | Li |
| Menge in mg . . | 10 | 239,8 | 16,36 | 10 | — | 11,5 | 119,9 | 7,43 | 8,5 | 88,88 | 5,95 |
| Konzentr. in Proz. | | 2398 | 1636 | | | | 1043 | 64,6 | | 1045 | 70,0 |
| Konzentr. in Mol | | 0,14 | 0,23 | | | | 0,06 | 0,09 | | 0,06 | 0,1 |

Auch in dieser sicher übersättigten Lösung, deren Harnsäuregehalt an der unteren Grenze liegt, bei der man im Reagenzglase gerade noch eine Gelbildung beobachten kann, findet sich nach der Dialyse zu beiden Seiten der Membran gleiche Konzentration an Harnsäure und Lithium. Das spricht dafür, daß die übersättigten Lösungen nicht die Charakteristika des Solzustandes haben.

In den beiden folgenden Versuchen suchten wir schließlich die Frage zu klären, bei welcher Harnsäurekonzentration der Übergang von der übersättigten Lösung zum Gelzustand statthat. Zu diesem Zwecke wurden im Versuche 26 1,1041 g, im Versuche 27 1,3528 g Harnsäure in je 50 ccm 0,2 n LiOH (im letzten Falle nach längerem Sieden) aufgelöst. Im Versuche 27 bildete sich in der Dialysierhülse eine nicht sehr steife Gallerte; im Versuche 26 blieb die Uratlösung flüssig.

Dementsprechend zeigt Versuch 26 das Bild, das wir von der Dialyse der übersättigten Lösung her kennen, während Versuch 27 das Verhalten eines typischen Harnsäuregels wiedergibt.

*26. Versuch.* Dialyse 48 Stunden. Schleicher-Schüllhülsen. *Innenflüssigkeit:* Uratlösung. *Außenflüssigkeit:* destilliertes Wasser ($p_H$ nach der Dialyse 8,56).

*27. Versuch.* Dialyse 72 Stunden. Schleicher-Schüllhülsen. *Innenflüssigkeit:* Uratlösung. *Außenflüssigkeit:* destilliertes Wasser.

*Tabelle zu Versuch 26 und 27.*

| | Vor der Dialyse | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | außen | | innen | | | außen | | | |
| | Fl. ccm | U. | Li | Fl. ccm | U., Li | Fl. ccm | U. | Li | Fl. ccm | U. | Li | |
| 26 | 10 | 227,2 | 14,4 | 10 | — | 11 | 102,3 | 6,5 | 9 | 81,8 | 4,6 | Menge in mg |
| | | 2272 | 144 | | | | 929 | 59,0 | | 910 | 51 | Konzentr. in Proz. |
| 27 | 10 | 349,6 | 17,1 | 10 | | Gel | 241,5 | 11,17 | 9 | 76,33 | 4,4 | Menge in mg |
| | | — | — | | | | 68,8 | 65,4 | | 21,7 | 25,7 | Proz d Gesamtm. |

Die Versuche ergeben, daß der Übergang zwischen der übersättigten Harnsäurelösung in LiOH und der Lithiumuratgallerte scharf ist. Während sich die übersättigten Lösungen in der Dialyse wie echte Lösungen verhalten, zeigen die Gallerten sowohl die Eigenschaft der echten Lösung wie die der Kolloide. Der Übergang zwischen übersättigter Lösung und Gelzustand liegt, wenn man 0,2 n LiOH verwendet, zwischen einer Harnsäurekonzentration von 2,3 und 3,5 g-Proz.

### III. Über Elektrolytverteilung bei Harnsäuregelen.

Die letzte Versuchsreihe galt der Prüfung der Frage, wie sich das System Harnsäure-Lithiumgel in der Dialyse verhalten würde, wenn zur Außenflüssigkeit andere Elektrolyte zugesetzt werden. Es sollte vor allem untersucht werden, ob die Ionenverteilung auch hier den von *Donnan* entwickelten Gesetzmäßigkeiten entspricht.

In den folgenden Versuchen enthielt die Außenflüssigkeit bei Beginn der Dialyse wechselnde Mengen von KCl.

Bei der Analyse der Innen- und Außenflüssigkeit werden Lithium und Kalium gemeinsam als Chloride gravimetrisch bestimmt, dann in der salzsauren Lösung der Asche das Kalium nach der Methode von *Kramer* und *Tisdall*. Daraus ergibt sich indirekt der Wert für Lithium. Die Chlorbestimmung geschah nach *Volhard* in der Mikromodifikation nach *Bang*. Die Harnsäure wurde wie früher aus dem N-Gehalt ermittelt.

*28. Versuch.* Dialyse 5 Tage. Schleicher-Schüllhülsen. *Innenflüssigkeit.* Uratgel. *Außenflüssigkeit:* KCl-Lösung ($p_H$ nach der Dialyse 8,6).

*29. Versuch.* Dialyse in a: 2 Tage, in b: 4 Tage, in c: 5 Tage. Schleicher-Schüllhülsen. *Innenflüssigkeit:* Uratgel. *Außenflüssigkeit:* KCl-Lösung ($p_H$ nach der Dialyse 9,3).

*30. Versuch.* Dialyse in a: 24 Stunden, in b: 48 Stunden, in c: 72 Stunden. Schleicher-Schüllhülsen. *Innenflüssigkeit:* Uratgel. *Außenflüssigkeit:* KCl-Lösung ($p_H$ nach der Dialyse in a: 4,82, b: 8,58, c: 8,13).

Das bemerkenswerteste Ergebnis aller angeführten Versuche 28 bis 30, die sich einmal durch die Harnsäure- und Lithiumkonzentration des Gels, ferner durch die wechselnde Konzentration des zugesetzten

*Tabelle I zu den Versuchen 28 bis 30.* (Mengen in mg.)

| Versuch Nr. | Vor der Dialyse | | | | | | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | | | | | Fehler-Prozente | | | | $p_H$ in der Außen-flüssigkeit |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | | | außen | | | | | innen | | | | | außen | | | | | | | | | |
| | Fl. | U. | Li | K | Cl | Fl. | U. | Li | K | Cl | Fl. | U. | Li | K | Cl | Fl. | U. | Li | K | Cl | U | Li | K | Cl | |
| 28 | 10 | 368,7 | 14,8 | — | — | 10 | — | — | 14,5 | 13,2 | Gel | 293,5 | 10,4 | 14,02 | 6,6 | 10 | 54,6 | 3,53 | 0,64 | 5,9 | — 5,4 | — 4,5 | +1,1 | — 5,3 | — |
| 29 a | 10 | 379,2 | 18,7 | — | — | 10 | — | — | — | — | „ | 304,5 | 14,2 | — | — | 10 | 71,9 | 3,9 | — | — | — 0,7 | — 3,3 | — | — | 9,3 |
| 29 b | 10 | 379,2 | 18,7 | — | — | 10 | — | — | 36,25 | 30,3 | „ | 331,9 | 13,6 | 33,7 | 15,4 | 10 | 50,9 | 5,7 | 2,6 | 13,5 | + 0,9 | + 3,2 | +0,1 | — 4,7 | — |
| 29 c | 10 | 379,2 | 18,7 | — | — | 10 | — | — | 62,56 | 56,73 | „ | 322,1 | 9,94 | 60,4 | 28,4 | 10 | 34,02 | 9,6 | 1,9 | 23,04 | — 5,9 | + 4,5 | —0,5 | — 8,3 | — |
| 30 a | 10 | 491,7 | 20,06 | — | — | 10 | — | — | — | — | „ | 391,4 | 16,0 | — | — | 10 | 93,1 | 3,7 | — | — | — 1,3 | — 2,2 | — | — | 8,42 |
| 30 b | 10 | 491,7 | 20,06 | — | — | 10 | — | — | 33,2 | 30,17 | „ | 423,7 | 13,6 | 28,4 | 17,2 | 10 | 63,1 | 6,9 | 2,2 | 15,4 | — 1,0 | + 2,2 | —7,9 | + 8,1 | 8,58 |
| 30 c | 10 | 491,7 | 20,06 | — | — | 10 | — | — | 66,4 | 60,34 | „ | 468,7 | 14,3? | 60,2 | 35,8 | 10 | 36,1 | 9,2 | 1,2 | 28,7 | + 2,6 | +16,6 | —7,0 | + 6,1 | 8,13 |

*Tabelle II zu den Versuchen 28 bis 30.* (Konzentration in Molarität.)

| Versuch Nr. | Vor der Dialyse | | | | | | | | Nach der Dialyse | | | | | | | | $p_H$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | innen | | | | außen | | | | innen | | | | außen | | | | |
| | U. | Li | K | Cl | U. | Li | K | Cl | U. | Li | K | Cl | U. | Li | K | Cl | |
| 28 | 0,21 | 0,21 | — | — | — | — | 0,037 | 0,037 | 0,17 | 0,15 | 0,035 | 0,018 | 0,03 | 0,05 | 0,002 | 0,016 | — |
| 29 a | 0,22 | 0,26 | — | — | — | — | — | — | 0,18 | 0,21 | — | — | 0,045 | 0,055 | — | — | 9,3 |
| 29 b | 0,22 | 0,26 | — | — | — | — | 0,093 | 0,093 | $0,19_5$ | 0,19 | 0,086 | 0,043 | 0,03 | 0,08 | 0,007 | 0,038 | — |
| 29 c | 0,22 | 0,26 | — | — | — | — | 0,16 | 0,16 | 0,19 | 0,14 | 0,15 | 0,08 | 0,02 | 0,14 | 0,005 | 0,06 | — |
| 30 a | 0,29 | 0,29 | — | — | — | — | — | — | 0,23 | 0,23 | — | — | — | 0,05 | — | — | 8,42 |
| 30 b | 0,29 | 0,29 | — | — | — | — | 0,085 | 0,085 | 0,25 | 0,19 | 0,07 | 0,048 | $0,03_7$ | 0,098 | 0,006 | 0,04 | 8,58 |
| 30 c | 0,29 | 0,29 | — | — | — | — | 0,17 | 0,17 | $0,27_6$ | 0,2? | 0,15 | 0,10 | $0,02_1$ | 0,13 | 0,003 | 0,08 | 8,13 |

*Tabelle III zu Versuch 28 bis 30.*

Elektrolytverteilung nach der Dialyse. Ursprüngliche Konzentration an U., Li, K, Cl = 100.

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 28 | 100 | 100 | — | — | — | — | 100 | 100 | 79,9 | 70,3 | 96,4 | 50 | 14,7 | 23,2 | 4,7 | 44,7 |
| 29 a | 100 | 100 | — | — | — | — | — | — | 80,3 | 75,9 | — | — | 18,8 | 20,8 | — | — |
| 29 b | 100 | 100 | — | — | — | — | 100 | 100 | 87,6 | 72,2 | 92,9 | 50,8 | 13,3 | 31 | 6,6 | 44,5 |
| 29 c | 100 | 100 | — | — | — | — | 100 | 100 | 84,9 | 53,1 | 96,5 | 50 | 9,2 | 52,4 | 4,0 | 42,7 |
| 30 a | 100 | 100 | — | — | — | — | 100 | 100 | 79,7 | 80 | — | — | 19 | 18,8 | — | — |

KCl unterschieden, ist, daß das Kalium nahezu quantitativ nach innen, d. h. zum Kolloidelektrolyten (Harnsäure) geht. Dieses Verhalten steht durchaus im Einklang mit den Überlegungen, die *Donnan* über die Verteilung der Elektrolyte bei ähnlichen Systemen angestellt hat. Während in der experimentell gegebenen Variation der Kaliumkonzentration eine Änderung in der K-Verteilung jedoch nicht zu beobachten war, scheint die Lithiumkonzentration außen von der Kaliumkonzentration in der Innenflüssigkeit abhängig zu sein: je größer die Menge Kalium ist, die ins Innere der Membran zum Gel wandert, um so mehr Lithium wird in die Außenflüssigkeit abgestoßen.

Auch das Verhalten der in Lösung vorhandenen Harnsäure wird durch den Elektrolytzusatz beeinflußt. Mit steigendem KCl-Zusatz wird die Harnsäurekonzentration der Außenflüssigkeit geringer. Das spricht dafür, daß das $K^{\cdot}$ und das Harnsäureanion sich zu einem undissoziierten, nicht diffusiblen Kaliumurat verbinden.

Die Verteilung der Cl-Ionen erwies sich im ganzen unabhängig von den anderen Bestandteilen des Systems. Wir sehen bei Berücksichtigung der analytischen Fehler etwa gleiche Konzentration in der Innen- und Außenflüssigkeit.

Prinzipiell wie Kalium verhält sich auch das Natrium. Fast die Gesamtmenge des in der Außenflüssigkeit vorhandenen Na befand sich (in hier nicht wiedergegebenen Versuchen) nach der Dialyse in der Innenflüssigkeit.

**Zusammenfassung.**

1. Bei der Dialyse von Eucupinlösungen (Eucupin. bihydrochlor.) tritt eine Membranadsorption auf, die unter gleichen Bedingungen bei Kollodiummembranen wesentlich höher ist als bei Schleicher-Schüllhülsen. Mit steigender saurer Reaktion nimmt die Adsorption ab und ist bei etwa $p_H$ 4 überhaupt nicht mehr zu beobachten. Sie betrifft demnach nur die Eucupinbase. Bis zu einem gewissen Grade läßt sich die Adsorption auch durch vorherige Sättigung der Membran mit Eucupin überwinden. Im übrigen verhalten sich die Eucupinlösungen in der Dialyse wie echte Lösungen.

2. Das Eucupingel (bzw. Eucupinacetatgel) besteht aus einem kolloidalen, nicht diffusiblen, und aus einem echt gelösten Anteil. Unter den vorliegenden Versuchsbedingungen dürften etwa 60 Proz. des Eucupingels kolloidalen Charakter haben.

3. Wie das Eucupingel verhält sich auch das Uratgel (dargestellt aus Harnsäure und LiOH). Auch hier müssen wir einen nicht diffusiblen, kolloidalen Anteil (in den vorliegenden Versuchen zu etwa 60 Proz.) und einen dialysablen annehmen.

4. Bei der Dialyse findet man in der Außenflüssigkeit Harnsäure und Lithium in (ungefähr) gleicher molarer Konzentration. Der Übergang

zwischen der übersättigten Harnsäurelösung in LiOH und der Lithiumuratgallerte ist scharf. Die übersättigten Lösungen verhalten sich bei der Dialyse wie echte Lösungen.

5. Untersucht man die Vorgänge bei der Dialyse: „Uratgallerte innen — KCl-Lösung außen", so findet man nach der Dialyse, daß das Kalium nahezu quantitativ nach innen, d. h. zum Kolloidelektrolyten geht. Je größer die Menge des K ist, die ins Innere der Membran zum Gel wandert, um so mehr Lithium findet sich in der Außenflüssigkeit, während die Harnsäurekonzentration in der Außenflüssigkeit mit steigendem KCl-Zusatz sinkt.

Das System stellt also ein gutes Modell für die ungleiche Verteilung an und für sich gut diffundierender Elektrolyte diesseits und jenseits einer Membran dar bei Anwesenheit eines Kolloidelektrolyten.

---

# Über die Methodik der quantitativen Bestimmung des Fibrinogens.

II. Mitteilung.

Von

**Wilhelm Starlinger.**

(Aus der II. medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

*(Eingegangen am 5. Oktober 1923.)*

In einer vorausgehenden Mitteilung[1]) wurden die allgemeinen Grundlagen und die spezielle Technik der bisher bekannt gewordenen Methoden der quantitativen Bestimmung des Fibrinogens einer experimentellen Prüfung unterzogen, deren grundsätzliche Fragestellung von der Auffassung der Fibrinogens als jenes Eiweißkörpers, der im künstlich nicht beeinflußten Nativplasma im Verlaufe der spontanen Gerinnung zur Abscheidung gelangt (Nativfibrinogen = NFg), ihren Ausgang nahm, da diese Abgrenzung in Anbetracht der so schwierigen Trennung der einzelnen Eiweißkörper durch künstliche Einwirkungen als in den natürlichen Verhältnissen begründet wohl am wenigsten willkürlich erscheinen mußte.

Die dabei gewonnenen Versuchsergebnisse erlauben folgende grundsätzliche Feststellungen und Forderungen:

1. Hinsichtlich der Leistungsfähigkeit der in Betracht kommenden methodisch-technischen Möglichkeiten (Gravimetrie, Kjeldahlometrie, Refraktometrie) nimmt den ersten Rang die direkte Stickstoffbestimmung im Mikroverfahren (Fehlerquelle $\pm$ 0,006 g-Proz.), den zweiten Rang die indirekte[2]) refraktometrische Bestimmung (Fehler-

[1]) Diese Zeitschr. **140**, 203, 1923.

[2]) Unter direktem Verfahren ist die unmittelbare Bestimmung des ausgefällten Fibrinogens, unter indirektem Verfahren die Berechnung des ausgefällten Fibrinogens aus der Differenz der unmittelbar bestimmten Plasma- und Serumeiweißwerte zu verstehen.

quelle ± 0,02 g-Proz.) ein. Direkte und indirekte Gravimetrie und indirekte Kjeldahlometrie liefern nur im Makroverfahren genügende Werte.

2. Hinsichtlich der Verwendungsmöglichkeit des Ausgangsmaterials muß in Betracht gezogen werden:

a) Nativplasma (NP) (als ideales, doch bisher nie verwendetes Ausgangsmaterial) kann nur im refraktometrischen, nicht aber im gravimetrischen oder kjeldahlometrischen, und zwar weder direktem noch indirektem Verfahren verarbeitet werden, weil die infolge der kurzen, vor Eintritt der Gerinnung zur Verfügung stehenden Zeit unmögliche Entfernung der Blutplättchen zwar nicht die Bestimmung des Brechungsvermögens stört, wohl aber aus leicht ersichtlichen Gründen bei beiden anderen Verfahren schwere Fehlerquellen bedingt.

b) Hirudinplasma (HP) (derzeit wegen völligen Hirudinmangels nicht mehr darstellbar) kann nur im Rahmen der Refraktometrie (und zwar ebensogut wie NP, da die Brechungswerte beider völlig übereinstimmen) und indirekten (Makro!) Gravimetrie, nicht aber im Rahmen der direkten und indirekten Kjeldahlometrie und direkten Gravimetrie Verwendung finden, da bei der direkten Wäge- und Stickstoffbestimmung die durch das Hirudin bewirkte irreversible partielle Stabilisierung des Fibrinogens, bei der indirekten Stickstoffbestimmung das im Plasma vorhandene Hirudin Fehler verursacht.

c) Salzplasma[1]) kann weder im direkten gravimetrischen, noch im direkten kjeldahlometrischen, sondern nur im indirekten (Makro!) gravi- und kjeldahlometrischen, sowie im refraktometrischen Verfahren unter der Voraussetzung verwertet werden, daß Nativserum und nicht Salzserum zur Gegenüberstellung gelangt, da das zugesetzte Salz in den meisten Fällen ebenfalls eine irreversible partielle Stabilisierung des Fibrinogens bewirkt und daher in jeder direkten Bestimmung zu kleine Fibrinogenwerte (Salzfibrinogen = SFg) zur Feststellung bringt. Die Verwendung der refraktometrischen Methodik verlangt überdies noch die Erfüllung ganz bestimmter, später zu besprechender Forderungen.

---

[1]) Unter Salzplasma ist Nativsalzplasma (NSP), d. h. NP mit nachträglichem, erst nach Entfernung der Erythrocyten erfolgtem Salzzusatz zu verstehen, so daß die zugesetzte Salzmenge bzw. die bei Verwendung von Salzlösung überdies noch eingetretene Verdünnung jeweils genau bekannt sind. Bei Verwendung gewöhnlichen Salzplasmas, das durch Salzzusatz zum Vollblut gewonnen wird, erfordern die auf solche Art bewirkten Veränderungen besondere Beachtung, hinsichtlich deren auf die erste Mitteilung verwiesen sei. Als gerinnungsverhinderndes Salz darf nur Natriumcitrat verwendet werden (s. erste Mitteilung).

d) Im indirekten Verfahren darf als Serum nur Nativserum (NS, das ist Serum, das bei der Spontangerinnung von Nativplasma abgepreßt wurde) verwendet werden, da gewöhnliches Vollblutserum in den meisten Fällen infolge oft sehr beträchtlicher Wasserverschiebungen zwischen gerinnendem Plasma und Blutkörperchen sowohl eine Verdünnung (*G. Leendertz, W. Starlinger*) als auch Eindickung (*W. Starlinger*) erfahren kann.

3. Daraus ergibt sich, daß die Menge des NFg nur bestimmt werden kann im Rahmen folgender Verfahren:

a) Makroverfahren: Indirekte gravimetrische Bestimmung zwischen HP oder NSP einerseits und NS andererseits; indirekte kjeldahlometrische Bestimmung zwischen NSP und NS.

b) Mikroverfahren: Refraktometrische Differenzbestimmung zwischen NP oder HP oder NSP (s. später) einerseits und NS andererseits.

Alle anderen Methoden, die auf der Verarbeitung von Salzplasma allein beruhen, bringen, gleichgültig, ob sie auf einem direkten Verfahren (direkte Gravi- und Kjeldahlometrie) oder einem indirekten Verfahren (indirekte Gravi- und Kjeldahlometrie, sowie Refraktometrie zwischen Salzplasma und zugehörigem, durch Rekalzifikation oder Erwärmung auf 56$^0$ gewonnenem Salzserum) aufgebaut sind, nicht das NFg, sondern nur das SFg zur Feststellung, liefern also Ergebnisse, die zwar nicht für sich allein, wohl aber als Ergänzung des gleichzeitig bestimmten NFg im Sinne der Beurteilung seines physikalisch-chemischen Zustandes ausgezeichnete Verwertung finden können (s. erste Mitteilung).

In diesem Zusammenhange möge noch eine kurze experimentelle Beobachtung nachgetragen werden, die die in der vorhergehenden Mitteilung begründete Annahme, daß Salzzusatz einen Teil der im Nativplasma vorhandenen Fibrinogenkolloide physikalisch-chemisch im Sinne weitgehender Stabilisierung verändert, völlig zu sichern scheint: Da nämlich der Einwand gemacht werden könnte, daß der Vergleich der aus Salzplasma durch Rekalzifikation oder 55grädige Wärmeflockung abgeschiedenen Fibrinogenmenge mit der durch Spontangerinnung erhaltenen nicht zulässig sei, da der Ablauf des Wirkungsmechanismus in beiden Fällen verschieden erfolge, daß also die quantitative Differenz zwischen NFg und SFg zugunsten des ersteren nicht eine Folge eingetretener Salzstabilisierung, sondern nur ungenügender Fällungswirkung aufzufassen sei, blieb noch der Nachweis zu erbringen, daß durch die Wärmefällung aus Nativplasma ebensoviel Eiweiß entfernt würde wie durch die Spontangerinnung. Dies ist nun auch tatsächlich der Fall, wie aus der Betrachtung der folgenden Tabelle I hervorgeht.

*Methodik:* Gewinnung von Nativserum aus Nativplasma einerseits durch Erwärmung auf 56$^0$ durch 5 Minuten (wobei eine feinflockige Fällung

zur Abscheidung gelangt), andererseits durch Spontangerinnung. Die Angabe der Brechungswerte erfolgt, ebenso wie in den folgenden Tabellen, in *Pulfrich*schen Skalenteilen auf ein halbes Zehntel genau.

*Tabelle I.*

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| N S durch Spontangerinnung . | 60,9 | 58,8 | 57,9 | 56,05 | 55,0 |
| N S durch Wärmeflockung . . | 60,9 | 58,8 | 57,9 | 56,1 | 54,95 |

4. Auf die Beurteilung der einzelnen, bisher angegebenen und durchgeführten Verfahren angewendet, erlauben daher diese Feststellungen folgende kritische Bewertung:

a) Die Methode von *Reye* liefert zu große Werte, da die 28 Vol.-Proz.-Sättigung mit gesättigter Ammonsulfatlösung NFg + (Fibrino-)Globulin fällt.

b) Die Methoden von *Cullen-van Slyke*, *Gram*, *Foster-Whipple*, *Howe*, *Lester*, *Leendertz-Gromelski* (Methode b), *Leendertz*, *Pfeiffer-Kosler*, *Porges-Spiro* liefern *zu kleine Werte*, da sie sämtlich Salzplasma unter Zuhilfenahme der Rekalzifikation verarbeiten, sei es im direkten Verfahren, sei es im indirekten unter Gegenüberstellung des zugehörigen Salzserums.

c) Die Methode von *Winternitz* kann richtige Werte geben, wenn Vollblutserum und Nativserum im gegebenen Falle in ihren Eiweißverhältnissen übereinstimmen, sie wird zu große Werte liefern, wenn das Vollblutserum bei der Gerinnung verdünnt, zu kleine, wenn es eingedickt wurde.

d) Als einziges Verfahren, das die Menge des NFg zur Messung bringt, darf also nur die Methode a) von *Leendertz-Gromelski* gelten, die im Differenzverfahren NSP und in gleicher Weise mit Salzlösung verdünntes NS gegenüberstellt; allerdings, ohne daß der grundsätzliche Unterschied, der in der Verwendung von (erst nachträglich mit Salzlösung verdünntem) NS statt Salzserum besteht, beachtet oder angestrebt wurde. Zudem fehlte bis jetzt die experimentelle Sicherung des Prinzips der Methode insofern, als die rein additive, also der Berechnung zugängliche Änderung des Brechungsvermögens des NP durch das zugesetzte Salz erst bewiesen werden mußte, da a priori eine außerdem noch etwa konstitutiv bedingte Brechungsänderung durchaus in den Bereich der Erwägung gezogen werden mußte.

Da also von den zur Feststellung der Menge des NFg tauglichen Methoden die unter 3a genannten Makroverfahren aus ersichtlichen Gründen praktisch nicht in Frage kommen können, da weiter die technisch so überaus einfache refraktometrische Differenzbestimmung zwischen HP und NS wenigstens derzeit am völligen Hirudinmangel scheitert, die Differenzbestimmung zwischen NP und NS schließlich

zwar als Idealmethode gelten muß, für den weniger Geübten aber doch gewisse technische Schwierigkeiten mit sich bringt, erwies es sich als notwendig, den von *Leendertz-Gromelski* schon beschrittenen Weg weiter zu verfolgen. Im nachstehenden sollen daher die oben geforderten und schon in meiner ersten Mitteilung angedeuteten experimentellen Sicherungen als Grundlagen einer theoretisch durchaus einwandfreien und praktisch sehr vereinfachten Methodik beigebracht werden, die auf der Verarbeitung von NSP und NS im refraktometrischen Differenzverfahren beruht und mit drei refraktometrischen Bestimmungen bei Verbrauch von wenigen Kubikzentimetern Blut gleichzeitig sowohl das NFg als auch SFg zur Feststellung bringt.

Die Erfüllung der oben begründeten grundsätzlichen Forderung des Nachweises einer nur additiv erfolgenden Brechungsänderung des NP durch das zugesetzte Salz ergibt sich aus den folgenden Tabellen.

*Methodik:* Das Brechungsvermögen des NP wird einerseits unmittelbar refraktometrisch bestimmt, andererseits mittelbar aus dem zugehörigen NSP, das durch Zusatz von Natriumcitrat in Substanz gewonnen wird, errechnet, wobei eine 0,1 proz. Salzkonzentration 0,4 Skalenteilen entspricht.

*Tabelle II.*

| Salzkonzentration des NSP in g-Proz. | Beobachteter Brechungswert des NSP | Berechneter Brechungswert des NP | Beobachteter Brechungswert des NP |
|---|---|---|---|
| 0,3 | 69,7 | 68,5 | 68,5 |
| 0,28 | 63,7 | 62,6 | 62,65 |
| 0,25 | 60,05 | 59,05 | 59,0 |
| 0,2 | 64,8 | 64,0 | 64,05 |
| 0,2 | 61,5 | 60,7 | 60,7 |
| 0,2 | 61,15 | 60,35 | 60,4 |
| 0,2 | 60,8 | 60,0 | 60,0 |
| 0,2 | 58,9 | 58,1 | 58,1 |
| 0,2 | 59,0 | 58,2 | 58,2 |
| 0,2 | 51,8 | 51,0 | 50,95 |

Da nun die Verwendung des Salzes in Substanz bei Verarbeitung kleiner Mengen Plasma eine sehr genaue Wage erfordert, führte ich die gleiche Prüfung, trotzdem ich sonst eine Verdünnung tunlichst zu vermeiden trachte, dem technischen Vorteil zuliebe, auch für den Salzzusatz in Lösung durch.

*Methodik:* Wie oben; der Salzzusatz erfolgt in wässeriger Lösung verschiedener Konzentration, schwankend um 10 Proz. (Brechungswert der verwendeten Salzlösungen 37,7 bis 50,4) im Verhältnis 0,03 Lösung auf 1,0 Plasma. Die Berechnung des NP erfolgt nach der Formel

$$\frac{(a+b)\ y + b z}{a}$$

wobei $y$ den beobachteten Brechungswert des NSP, $z$ den bekannten Brechungswert der Salzlösung, $a$ die Menge des NP und $b$ die Menge der Salzlösung bedeutet.

*Tabelle III.*

| Brechungswert der Salzlösung | Beobachteter Brechungswert des NSP | Berechneter Brechungswert des NP | Beobachteter Brechungswert des NP |
|---|---|---|---|
| 50,4 | 64,7 | 65,1 | 65,15 |
| — | 59,6 | 59,85 | 59,9 |
| — | 49,6 | 49,55 | 49,55 |
| — | 48,1 | 48,0 | 47,95 |
| 47,7 | 62,9 | 63,25 | 63,25 |
| — | 60,6 | 61,0 | 61,0 |
| — | 58,4 | 58,7 | 58,75 |
| — | 54,7 | 54,9 | 54,95 |
| 37,8 | 64,4 | 64,9 | 64,9 |
| 37,7 | 62,2 | 62,95 | 63,0 |
| | 62,2 | 62,95 | |

Daß die Menge des zugesetzten Salzes innerhalb nicht allzuweit auseinander liegender Grenzen keinen nachteiligen Einfluß auf die Zuverlässigkeit des berechneten NP-Wertes ausübt, möge noch durch die Protokolle folgender beiden Reihenversuche belegt werden.

*Methodik:* NP wird mit steigenden Mengen der Salzlösung versetzt und wie oben berechnet.

*Tabelle IV.*

| Brechungswert der Salzlösung | | 47,7 | | | | 47,3 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Menge der zu 1,0 NP zugesetzten Salzlösung | — | 0,03 | 0,07 | 0,1 | — | 0,03 | 0,05 | 0,1 |
| Beobachteter Brechungswert des NSP | — | 58,4 | 58,1 | 57,8 | — | 62,9 | 62,5 | 61,8 |
| Berechneter Brechungswert des NP | — | 58,7 | 58,7 | 58,8 | — | 63,25 | 63,3 | 63,25 |
| Beobachteter Brechungswert des NP | 58,75 | — | — | — | 63,3 | — | — | — |

Aus den dargelegten Versuchsergebnissen geht demnach hervor, daß der Zusatz des gerinnungsverhindernden Salzes, gleichgültig, ob in Substanz oder wässeriger Lösung erfolgend, den Brechungswert des Nativplasmas nur in rein additivem Sinne ändert[1]), so daß die eingangs begründete Forderung in einwandfreier Weise als erfüllt betrachtet werden kann.

Die technische Durchführung gestaltet sich daher in folgender Weise:

Etwa 4 ccm Blut werden mittels paraffinierten Instrumentariums[2]) gewonnen, in zwei dünnen paraffinierten Zentrifugengläschen sofort durch 5 Minuten zentrifugiert, vom zellfreien Nativplasma wird mit paraffinierter Pipette eine genau bekannte Menge (am besten 1 ccm) abgehoben und in einem ebenfalls paraffinierten Gläschen entweder mit Salz in Substanz (am besten in 0,2 bis 0,3proz. Konzentration) oder Salz in Lösung (am

[1]) Auf die theoretische Bedeutung dieses Befundes für manche kolloidchemische Frage insbesondere im Rahmen der Gerinnungsbiologie kann hier nicht näher eingegangen werden.

[2]) Die paraffinierte Kanüle darf ohne Nachteil durch eine neue, innen glatte gewöhnliche Stahlnadel ersetzt werden.

besten 0,03 ccm einer 10proz. Lösung) versetzt, gut durchgeschüttelt und sofort refraktometriert (NSP). Hierauf wird der Rest des NP abpipettiert und der Spontangerinnung überlassen (NS), der Rest des NSP bei 55° durch 5 Minuten vom SFg befreit und nach stattgehabtem Zentrifugieren als Salzserum ebenso wie das inzwischen gewonnene NS refraktometriert. Die Differenz zwischen dem nach der oben angeführten Formel aus dem NSP berechneten NP und NS ergibt das NFg, die Differenz zwischen NSP und Salzserum das SFg. Vor Durchführung der Ausflockung des NSP können eventuell noch 0,1 bis 0,2 ccm zur Anstellung anderer Bestimmungen [Stabilitätsprüfung aller Eiweißfraktionen durch Sukzedanfällung nach *W. Starlinger*[1])] abgetrennt werden.

Zusammenfassend kann daher das refraktometrische Differenzverfahren als die Methode der Wahl bezeichnet werden, da es einerseits eine für alle biologischen Fragestellungen genügende technische Leistungsfähigkeit aufweist und andererseits eine Reihe nur ihm eigentümlicher Vorzüge (rascheste und einfachste Technik, geringste Mengen Ausgangsmaterials, Verarbeitungsmöglichkeit von NP, gleichzeitige Bestimmung von NFg und SFg) für sich beanspruchen darf.

---

[1]) Klin. Wochenschr. 1923, S. 31.

# Über Sulfatase.

## III. Mitteilung.

## Über die enzymatische Spaltung von im Pferde-, Hammel- und Kaninchenharn enthaltenen aromatischen Ätherschwefelsäure-Verbindungen.

Von

**J. Noguchi.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie u. Biochemie in Berlin-Dahlem.)

*(Eingegangen am 30. September 1923.)*

Das lange gesuchte Ferment, das auf eine wichtige Klasse von Stoffwechselprodukten, auf die Ätherschwefelsäuren, einwirkt, die *Sulfatase*, ist vor kurzem von *C. Neuberg* und *K. Kurono*[1]) aufgefunden worden. Die genannten Autoren haben gezeigt, daß der Aspergillus oryzae ein Ferment hervorbringt, das jene Ätherschwefelsäuren zerlegt. Sie untersuchten die Tätigkeit des genannten Enzyms, das in der Takadiastase vorkommt, zunächst an dem einfachsten Vertreter der aromatischen Ätherschwefelsäuren, an der *Phenolschwefelsäure* $C_6H_5.O.SO_3H$. Sodann teilten *C. Neuberg* und *K. Linhardt*[2]) mit, daß die Wirksamkeit der Sulfatase nicht auf die Äthersulfate des Phenols beschränkt ist, sondern sich auch auf die *ätherschwefelsauren Salze des Parakresols*, $CH_3.C_6H_4.O.SO_3H$, erstreckt. Bekanntlich kommen die Kresolverbindungen sogar in größerer Menge als die des einfachen Phenols im tierischen Harn vor[3]).

Es war nun festzustellen, wie sich die Tätigkeit der Sulfatase offenbart, wenn sie nicht auf rein wässerige Lösungen der aromatischen Schwefelsäuren trifft, sondern wenn ihr als Substrat der native Harn dargeboten wird, der neben vielen anderen Substanzen ein *Gemisch verschiedener Äthersulfate* enthält. Erinnert sei nur daran, daß neben

---

[1]) *C. Neuberg* und *K. Kurono*, diese Zeitschr. **140**, 295, 1923.
[2]) *C. Neuberg* und *K. Linhardt*, ebendaselbst **142**, 191, 1923.
[3]) Siehe C. *Neuberg*, Der Harn, S. 466.

den Phenolderivaten ja auch die Indoxylschwefelsäure ein häufiger, fast regelmäßiger Bestandteil des Urins ist. Man weiß weiter, daß der Gehalt an Ätherschwefelsäuren im Harn der einzelnen Tierarten ungleich ist und daß auch die Verteilung der organisch gebundenen Schwefelsäure auf die drei hauptsächlich in Betracht kommenden Paarlinge Phenol, Kresol und Indoxyl beträchtlichen Schwankungen unterliegt. Das war Veranlassung, das Verhalten des Harns vom Pferde, Hammel und Kaninchen zu prüfen. Dabei ging ich folgendermaßen vor:

Der frisch gelassene Harn wurde filtriert und bei der natürlichen Reaktion, die er gerade aufwies, mit dem Enzympräparat in Berührung gebracht. Zur Kontrolle wurden stets Proben des gleichen Urins für sich mit Toluol im selben Brutschrank digeriert. Vorweg bemerke ich, daß dabei keinerlei Spaltung der Ätherschwefelsäuren eintrat im Einklange mit der Erfahrung, daß diese gepaarten Verbindungen sehr widerstandsfähig sind. Mein Fermentmaterial, die Sulfatase, enthielt weder freie anorganische Sulfate, noch gab sie solche bei der Digestion in wässeriger Lösung ab, so daß sich Kontrollserien mit dem Ferment allein erübrigten.

Die Bestimmung der Sulfatasewirkung geschah derart, daß zunächst in gewohnter Weise der Gehalt des Harns an Ätherschwefelsäuren ermittelt wurde. In den mit Enzym behandelten Ansätzen wurde dann die Abnahme der organisch gebundenen Schwefelsäuremenge in Intervallen festgestellt. Die Analysenmethode ist im Praktikum von *Salkowski* und im *Neuberg*schen Handbuche „Der Harn“ beschrieben.

### I. Untersuchung des Hammelharns.

100 ccm Hammelharn wurden mit 0,5 g Sulfatase und 2,5 ccm Toluol behandelt. Die ursprünglich vorhandene Menge gepaarter Schwefelsäure entsprach 0,0269 g $SO_3$ in 100 ccm Urin. Von diesem Quantum gepaarter Schwefelsäure waren gespalten:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Nach | 1 Tage | . . . . . | 42,61 Proz. |
| „ | 6 Tagen | . . . . . | 52,81 „ |
| „ | 12 „ | . . . . . | 60,14 „ |
| „ | 14 „ | . . . . . | 61,74 „ |

### II. Prüfung des Pferdeharns.

Bei dem Pferdeharn bin ich ähnlich vorgegangen und habe zugleich die spaltende Wirkung steigender Mengen Sulfatase verfolgt.

Zu diesem Zwecke wurden je 150 ccm des Urins mit 3 ccm Toluol und dann $\alpha$) mit 0,1 g, $\beta$) mit 0,2 g, $\gamma$) mit 0,5 g, $\delta$) mit 1,0 g sowie $\varepsilon$) mit 1,5 g Sulfatase angesetzt.

Die Pferdeharne selbst waren an zwei auf einander folgenden Tagen gesammelt, stammten aber vom gleichen Tiere. Es zeigte sich, daß der

normale Gehalt an gebundener Schwefelsäure praktisch der gleiche war; er betrug nämlich 0,1097 g $SO_3$ in 100,0 ccm Urin.

Über die spaltende Wirkung des Fermentes auf die Äthersulfate im Pferdeharn gibt folgende Übersichtstabelle Auskunft:

Auf 150 ccm Pferdeharn kamen 3 ccm Toluol und an Sulfatase:

| | 0,1 g | 0,2 g | 0,5 g | 1,0 g | 1,5 g |
|---|---|---|---|---|---|
| Zerlegung nach 1 Tage . | — | — | — | 33,75 Proz. | 21,95 Proz. |
| „ „ 2 Tagen | — | — | — | — | — |
| „ „ 3 „ | 7,8 Proz. | 12,19 Proz. | 33,62 Proz. | — | — |
| „ „ 4 „ | — | — | — | 61,60 Proz. | 93,03 Proz. |
| „ „ 5 „ | — | — | 37,32 Proz. | — | — |
| „ „ 6 „ | 14,19 Proz. | 16,25 Proz. | — | — | — |
| „ „ 7 „ | — | — | — | 67,97 Proz. | — |
| „ „ 8 „ | — | — | 43,04 Proz. | — | — |
| „ „ 9 „ | — | — | — | — | — |
| „ „ 10 „ | 14,38 Proz. | 18,75 Proz. | — | — | — |
| „ „ 11 „ | — | — | — | — | — |
| „ „ 12 „ | — | — | — | — | — |
| „ „ 13 „ | — | — | — | — | — |
| „ „ 14 „ | — | — | 51,16 Proz. | — | — |
| „ „ 15 „ | — | — | — | — | — |
| „ „ 16 „ | — | — | — | — | — |
| „ „ 17 „ | 14,84 Proz. | 24,22 Proz. | — | — | — |

Deutlich erkennt man, daß mit einem hinreichenden Quantum von Enzym praktisch vollkommene Hydrolysen der Äthersulfate im Harn erreicht werden können. Dieses Ergebnis ist um so beachtenswerter, als man bei der Digestion reiner Lösungen von phenol- bzw. parakresolschwefelsauren Salzen mit Sulfatase keine so weitgehende Spaltung bisher erzielt hat. Der Grund für das günstigere Ergebnis kann darin gelegen sein, daß der Harn relativ weniger Ätherschwefelsäuren enthält als die von den Autoren untersuchte, etwa 1 proz. Lösung der reinen Salze, daß also mehr Ferment mit weniger Substrat zusammentraf. Es kann aber auch im natürlichen Harn eine vorteilhaftere Wasserstoffionenkonzentration gegeben sein, als sie in reinen wässerigen Lösungen oder bei den bisher gewählten Pufferzusätzen herrscht.

## III.

Schließlich berichte ich noch über die

### Wirkung der Sulfatase auf Kaninchenharn.

Hier handelte es sich nicht um einen normalen Urin, sondern um den eines Tieres, an das zu Versuchszwecken Phenol per os verabreicht war. Der Harn enthielt also relativ viel gepaarte Schwefelsäure, nämlich entsprechend 0,1013 g $SO_3$ in 100 ccm.

80,0 ccm Kaninchenharn wurden mit 2,0 ccm Toluol und 0,7 g Sulfatase bei 37° im Brutschrank belassen. Zur Gegenprobe habe ich

20 ccm des Harns mit 0,25 ccm Toluol für sich unter gleichen Bedingungen digeriert. Auch in diesem Kontrollharn trat keine freiwillige Zersetzung des vorhandenen Phenolsulfats ein.

Der Grad der enzymatischen Zerlegung geht aus nachstehenden Daten hervor:

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Nach 1 Tage | waren | gespalten . . | 26,57 | Proz. | des | Äthersulfats, |
| „ 4 Tagen | „ | „ . . | 80,51 | „ | „ | „ |
| „ 11 „ | „ | „ . . | 85,67 | „ | „ | „ |
| „ genau 2 Wochen | „ | „ . . | 87,31 | „ | „ | „ |

Wie man wahrnimmt, strebt auch hier die Sulfatasewirkung einer Zerlegung zu 100 Proz. zu.

### Zusammenfassung.

1. Es wird gezeigt, daß das auf Ätherschwefelsäuren eingestellte und bisher in seinem Einfluß auf rein wässerige Lösungen von phenolätherschwefelsaurem Kalium und parakresolschwefelsaurem Kalium geprüfte Ferment Sulfatase auch im Harn tätig ist.

2. Urine vom Hammel, Pferd und Kaninchen verhalten sich grundsätzlich gleich.

3. Mit hinreichenden Fermentmengen wird nahezu vollkommene sulfatische Hydrolyse der Ätherschwefelsäuren erreicht.

4. Auch der pathologische Harn eines mit Phenol gefütterten Kaninchens, der also reich an aromatischen Ätherschwefelsäureverbindungen ist, wurde von der Sulfatase gespalten.

# Über die Hexose-mono-phosphatase der Takadiastase.

Von

**J. Noguchi.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie u. Biochemie in Berlin-Dahlem.)

*(Eingegangen am 30. September 1923.)*

Von den Verbindungen der Zuckerarten mit der Phosphorsäure hat bisher eine größere Bedeutung erlangt die Hexose-di-phosphorsäure, die von bestimmten Hefearten unter besonderen Bedingungen gebildet wird und die andererseits auch im Tierkörper, namentlich in der Muskulatur, vorzukommen scheint; jedenfalls läßt sich aus tierischen Organen eine Substanz isolieren, deren Osazon mit dem aus pflanzlichem Material erhaltenen identisch ist, so daß die Gleichheit oder wenigstens nahe Verwandtschaft der beiden in Betracht kommenden Zuckerphosphorsäuren kaum zweifelhaft sein kann.

Die Hexose-di-phosphorsäure enthält zwei Reste esterartig gebundene Phosphorsäure, die mit ungleicher Festigkeit am Zuckerpaarling haften. Durch Behandlung mit verdünnten Säuren wird, wie *Neuberg*[1]) fand, eine Phosphorsäuregruppe sehr leicht eliminiert, während die andere im Molekülverbande bleibt. Mit diesen Verhältnissen hängt es wohl zusammen, daß die Hexose-di-phosphorsäure zum Zerfall neigt. Die freie Säure und ihre löslichen Salze geben leicht etwas Phosphorsäure ab. Will man das Verhalten zu Phosphorsäure abspaltenden Fermenten, zu Phosphatasen, untersuchen, so ist es bequemer, von der stabileren Hexose-mono-phosphorsäure, $C_6H_{11}O_5 . O . PO_3H_2$, auszugehen, die leicht aus dem Di-phosphat bereitet werden kann[1]).

*M. Tomita*[2]) hat bereits gezeigt, daß genau wie die Salze der Saccharose-mono-phosphorsäure auch die Verbindungen der Hexose-mono-phosphorsäure von tierischen Organen zerlegt werden, und er hat weiter dargetan, daß ein von der Zelle abtrennbares Ferment, eine *tierische Phosphatase*, für die Hydrolyse der Verbindungen verantwortlich ist.

Das Vorkommen von Phosphatasen beschränkt sich aber keineswegs auf das Tierreich, sondern entsprechende Enzyme sind auch in Vege-

---

[1]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **88**, 432, 1918.

[2]) *M. Tomita*, ebendaselbst **131**, 161, 170, 1922.

tabilien weit verbreitet. Ich erinnere an die Glycero-phosphatase[1]) der Hefe, an die Saccharo-phosphatase der Pilze und höheren Pflanzenarten[2]).

Es muß vorläufig dahingestellt bleiben, ob die Phosphatasen ungleicher Herkunft identisch und ob es dieselben Fermente sind, welche diese verschiedenartigen phosphorsäurehaltigen Substrate angreifen.

Ein sehr wirksames Fermentmaterial liegt in der sogenannten *Takadiastase* vor. Dieses Präparat wird für technische und medizinische Zwecke in den Handel gebracht. Es findet wegen seines Gehaltes an mannigfachen abbauenden Enzymen klinische Verwendung, wenn Störungen eine Unterstützung der natürlichen Funktionen der Verdauungssäfte wünschenswert machen.

Jüngst hat *S. Akamatsu* mitgeteilt, daß die Takadiastase ein Ferment oder eine Gruppe von Enzymen enthält, die aus Glycerophosphaten[3]) sowie aus Lecithin[4]) Phosphorsäure ablösen. Ich habe nun festgestellt, daß die „*Takadiastase*" *imstande ist, den Hexose-mono-phosphorsäure-ester*, dessen Bedeutung ich vorhin dargelegt habe, *zu verseifen und praktisch quantitativ zu zerlegen.*

Zunächst konstatierte ich durch qualitative Versuche die starke Phosphatasewirkung der Takadiastase und bediente mich dabei des von *Neuberg* und *Djenab*[2]) angegebenen Demonstrationsversuches. Er besteht darin, daß ein lösliches Erdalkalisalz der gepaarten Phosphorsäure, in meinem Falle das Barium-hexose-mono-phosphat, mit der Fermentsubstanz und Toluol einige Zeit im Brutschrank digeriert wird. Es scheidet sich dann als gallertige Masse unlösliches Bariumphosphat in charakteristischer Weise ab. Das Experiment wurde folgendermaßen ausgeführt:

0,2 g *hexose-mono-phosphorsaures Barium* wurden in 2 ccm Wasser gelöst und mit 0,2 g Takadiastase sowie 0,1 ccm Toluol versetzt. Das gut durchgeschüttelte Gemenge, das sich in einem Reagenzglase befand, wurde bei 37° im Thermostaten aufbewahrt. Am nächsten Tage war der Inhalt der Reagenzgläser zu einer opaken Gallerte erstarrt; dieselbe bestand aus Bariumphosphat.

Zu den *quantitativen Versuchen* bediente ich mich des *Natriumsalzes* der Hexose-mono-phosphorsäure. Diese Verbindung stellte ich aus dem Bariumsalz durch genaue Umsetzung mit Natriumsulfat her. Verwendet wurde eine rund 1 proz. Lösung von hexose-mono-phosphorsaurem Natrium. Sie war ganz frei von anorganischer Phosphorsäure;

---

[1]) *C. Neuberg* und *L. Karczag*, diese Zeitschr. **36**, 60, 1911.

[2]) *C. Neuberg* und *K. Djenab*, ebendaselbst 82, 391, 1917; *A. Němec* und Mitarbeiter, ebendaselbst **93**, 96, 1919; **119**, 74, 1921.

[3]) *S. Akamatsu*, ebendaselbst **142**, 184, 1923.

[4]) *Derselbe*, ebendaselbst S. 186.

ihr Gehalt an gebundenem organischen Gesamtphosphor wurde durch Soda-Salpeter-schmelze ermittelt.

200 ccm einer etwa 1 proz. Lösung wurden mit 2 g Takadiastase und 2 g Toluol im Wärmekasten bei 37° digeriert.

Zur Kontrolle wurde eine Lösung von hexose-mono-phosphorsaurem Natrium ohne Ferment, aber mit Toluolzugabe, im gleichen Brutschranke belassen. Wie ich mich überzeugt habe, wurde im fermentfreien Kontrollansatz aus meiner sehr reinen Substanz keine Phosphorsäure aus organischer Bindung abgegeben.

Eine weitere Gegenprobe bestand darin, daß eine Aufschwemmung von 2 g Takadiastase und 2 ccm Toluol in 200 ccm Wasser gleichzeitig angesetzt wurde. Diese Vorsichtmaßregel wandte ich an, weil aus der Takadiastase für sich etwas Phosphorsäure in die Lösung übertritt; diese Quantität wird jedoch bereits nach 2 Tagen konstant, und sie ist verschwindend gegenüber der im eigentlichen Fermentversuch in Freiheit gesetzten Menge anorganischen Phosphats.

Die Analysen habe ich, da hexose-mono-phosphorsaures Natrium durch Magnesiumsalze nicht gefällt wird, so bewerkstelligen können, daß aliquote Teile des Digerates jeweils nach 24 Stunden entnommen und mit Magnesia-mischung versetzt wurden. Der gebildete Niederschlag von Ammonium-Magnesium-phosphat wurde dann auf gewohnte Art weiter verarbeitet.

Die Verhältnisse werden durch die folgenden tabellarischen Übersichten erläutert.

*Tabelle I.*

200 ccm einer ungefähr 1 proz. Lösung von hexose-mono-phosphorsaurem Natrium, 2 ccm Toluol, 2 g Takadiastase. Temperatur 37°. (Organisch gebundene Phosphorsäure = 0,3635 g $PO_4$ in 100 ccm Urlösung.)

| Nach Tagen | Aus 20 ccm Lösung erhaltene Menge $Mg_2P_2O_7$ g | Auf 100 ccm umgerechnete Menge $PO_4$ g | Spaltung in Proz. |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,0718 | 0,3072 | 84,51 |
| 2 | 0,0721 | 0,3414 | 93,92 |
| 3 | 0,0800 | 0,3431 | 94,39 |
| 4 | 0,0803 | 0,3503 | 96,09 |

*Tabelle II.* 1,6 g Ferment, 160 ccm $H_2O$, 1,6 ccm Toluol. Temperatur 37°.

| Nach Tagen | Aus 20 ccm Lösung erhaltene Menge $Mg_2P_2O_7$ g | Auf 100 ccm umgerechnete Menge $PO_4$ g |
|---|---|---|
| 1 | 0,0160 | 0,0683 |
| 2 | 0,0166 | 0,0709 |
| 3 | 0,0160 | 0,0683 |
| 4 | 0,0163 | 0,0696 |
| 7 | 0,0166 | 0,0709 |

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, daß das Ferment allein nur eine geringe, nach 48 Stunden nicht mehr wachsende Menge von Phosphat abgab[1]). Weiter zeigt sich, daß unter den obwaltenden Verhältnissen der überwiegende Teil der Substanz bereits nach 2 Tagen zerlegt worden war. Von diesem Zeitpunkte ab nahm die Hydrolyse nur langsam zu und erreichte nach 4 Tagen einen Grad von 96 Proz., während sie nach 24 Stunden schon zu 84,5 Proz. erfolgt war.

Den Einfluß, den eine *Verringerung der Fermentquantität* ausübt, offenbaren die nachstehenden Versuchsreihen:

*Tabelle III.*

136 ccm der etwa 1 proz. Lösung von hexose-mono-phosphorsaurem Natrium, 0,2 g Ferment, 2 ccm Toluol. Temperatur 37°.

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene Menge $Mg_2P_2O_7$ g | Auf 100 ccm umgerechnete Menge $PO_4$ g | Spaltung in Proz. |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,0173 | 0,0753 | 20,71 |
| 3 | 0,0261 | 0,1103 | 30,34 |
| 5 | 0,0301 | 0,1332 | 36,64 |
| 7 | 0,0327 | 0,1395 | 38,37 |

*Tabelle IV.*

300 ccm derselben Lösung, 0,45 g Ferment, 2 ccm Toluol. Temperatur 37°.

| Nach Tagen | Aus 20,0 ccm Lösung erhaltene Menge $Mg_2P_2O_7$ g | Auf 100 ccm umgerechnete Menge $PO_4$ g | Spaltung in Proz. |
|---|---|---|---|
| 2 | 0,0246 | 0,0879 | 24,18 |
| 8 | 0,0352 | 0,1502 | 41,32 |
| 16 | 0,0382 | 0,1630 | 44,84 |
| 24 | 0,0426 | 0,1818 | 50,01 |
| 32 | 0,0436 | 0,1860 | 51,17 |

Unter diesen Umständen, d. h. mit wesentlich verminderter Enzymmenge, ging die Verseifung in achtmal längerer Zeit etwa halb so weit wie beim Ansatz der Tabelle I.

Aus den Daten erhellt, daß die Takadiastase eine sehr kräftige Phosphatase enthält; ihre Wirksamkeit hängt, wie allgemein bei Fermenten, von Zeit und Menge ab.

[1]) Dieses Quantum ist stets bei den Hauptversuchen in Abzug gebracht worden.

**Zusammenfassung.**

1. In der Takadiastase kommt ein Ferment vor, daß die Salze der Hexose-mono-phosphorsäure bei 37° zerlegt.

2. Aus dem hexose-mono-phosphorsauren Barium wird durch das Enzym Bariumphosphat in Form eines Gels in Freiheit gesetzt.

3. Die Hexose-mono-phosphatase kann ihr Substrat praktisch vollständig spalten.

4. Die Hydrolyse der hexose-mono-phosphorsauren Alkalien bleibt unvollständig, wenn man die Fermentmenge klein wählt.

# Über die carboxylatische Spaltung der Di-methyl-brenztraubensäure und die Herstellung der α-Keto-iso-valeriansäure.

Von

**H. K. Sen.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

*(Eingegangen am 2. Oktober 1923.)*

Jüngst habe ich über die Vergärbarkeit einer α-Ketosäure mit längerer Kohlenstoffkette, nämlich der α-Keto-n-capronsäure, berichtet und gezeigt, daß diese Verbindung den n-Valeraldehyd und durch dessen sekundäre Umwandlung auch den n-Amylalkohol liefert[1]). Dabei gelang es — genau wie bei den Versuchen von *C. Neuberg* und *A. v. May*[2]) an der einfachsten α-Ketosäure, der Brenztraubensäure —, durch Zusatz von schwefligsaurem Salz als Abfangmittel für den zunächst entstandenen Aldehyd praktisch die reine carboxylatische Spaltung dieser Valeryl-ameisensäure durchzuführen.

Die α-Keto-n-capronsäure leitet sich von keiner Verbindung ab, die mit Sicherheit oder regelmäßig in der Natur vorkommt. Daher habe ich meine Untersuchungen auf eine andere höhere α-Ketosäure ausgedehnt, die zu einem wichtigen Naturprodukt in Beziehung steht. Als solche wurde die *Di-methyl-brenztraubensäure* oder *Iso-butyl-ameisensäure*, $(CH_3)_2CH . CO . COOH$, gewählt, deren zugehörige Aminosäure im Valin, der α-Amino-iso-valeriansäure, vorliegt. *Auch diese α-Keto-iso-valeriansäure wird von Hefe glatt vergoren.*

Die Spaltung im Sinne der Gleichung:

$$(CH_3)_2CH . CO . COOH = CO_2 + (CH_3)_2CH . COH$$

kann mit frischer Hefe herbeigeführt werden. Ein bequemeres und gleichmäßigeres Material ist aber die Trockenhefe. Diese wirkt gut auf die freie Di-methyl-brenztraubensäure sowie auf deren mit Dinatriumphosphat gepufferte Lösung ein. Rund die Hälfte der theo-

[1]) *H. K. Sen*, diese Zeitschr. **140**, 447, 1923.

[2]) *C. Neuberg* und *A. v. May*, ebendaselbst S. 299.

retisch möglichen Menge an *Iso-butyl-aldehyd* habe ich bei der Vergärung der α-Keto-iso-valeriansäure für sich oder in Gegenwart von phosphorsaurem Salz erhalten. Die Ausbeute an diesem Körper stieg auf etwa 75 Proz., wenn die Zerlegung mit Hefe in Anwesenheit von Natriumsulfit und Natriumacetat-Puffer erfolgte. Wesentliche Mengen des zugehörigen Iso-butyl-alkohols habe ich nicht beobachtet; dementsprechend[1]) trat auch Acetaldehyd nur in Spuren auf.

Besondere Beobachtung verdient die Tatsache, daß die Carboxylase so leicht die Aldehydspaltung der Di-methyl-brenztraubensäure zuwege bringt. Denn *L. Bouveault* und *A. Wahl*[2]) heben besonders hervor, daß mit den üblichen Mitteln die Zersetzung der Substanz in Kohlendioxyd und Iso-butylaldehyd nicht gelingt. Die carboxylatische Wirkung des Fermentes erweist sich also dem rein chemischen Zugriff überlegen.

Für eine scheinbar günstige *Darstellung der Di-methyl-brenztraubensäure* haben *B. Rassow* und *R. Bauer*[3]) Angaben gemacht, doch habe ich an Hand derselben die Substanz nicht gewinnen können. Daher wurde die Säure auf einem sicher zum Ziele führenden Wege synthetisch bereitet.

Isopropyl-acetessigester (I.) wurde mit Äthylnitrit behandelt, wobei unter Abspaltung des Essigsäure-restes das Oxim[4]) des α-Keto-iso-valeriansäure-äthylesters (II.) entsteht. Dieser wird durch Einwirkung von Nitrosyl-schwefelsäure direkt in Di-methyl-brenztraubensäure (III.) übergeführt; sie tritt teils im freien Zustande, zur Hauptmenge aber als Ester auf, der dann mit Alkali noch zu verseifen ist:

$$\text{I.}\quad (CH_3)_2CH\,.\,\underset{\substack{|\\ CO\,.\,CH_3}}{CH}\,.\,COOC_2H_5 + C_2H_5\,.\,ONO \longrightarrow$$

$$\text{II.}\quad (CH_3)_2CH\,.\,\underset{\substack{\|\\ NOH}}{C}\,.\,COOC_2H_5 + ONO\,.\,SO_3H \longrightarrow$$

$$\text{III.}\quad (CH_3)_2CH\,.\,CO\,.\,COOH.$$

Die erwähnte Nitrosierung mittels Äthylnitrit gibt leichter ein einwandfreies Produkt von Oximino-ester als die von *R. Locquin*[4]) benutzte freie salpetrige Säure bzw. Salpetrig-Schwefelsäure.

Das nachstehend noch genauer beschriebene Verfahren liefert die Di-methyl-brenztraubensäure relativ leicht und in hoher Reinheit; denn die von mir erhaltene Säure kristallisierte ohne weiteres beim Abkühlen und siedete konstant im Vakuum.

---

[1]) Vgl. meine Ausführungen, diese Zeitschr. **140**, 449. 1923.
[2]) *L. Bouveault* und *A. Wahl*, Chem. Centralbl. **1902**, I, 251.
[3]) *B. Rassow* und *R. Bauer*, Journ. f. prakt. Chem. [2] **80**, 97, 1909.
[4]) *R. Locquin*, Chem. Centralbl. **1904**, II, 1457.

Hervorheben möchte ich, daß sich auch im vorliegenden Falle die *Sulfit-verbindung meiner Homo-brenztraubensäure als vergärbar erwies*, so daß man nun wohl *allgemein die von Neuberg und Reinfurth*[1]) *entdeckte carboxylatische Spaltbarkeit der Schwefligsäure-komplexe von α-Ketosäuren* annehmen kann.

### I. Darstellung der Di-methyl-brenztraubensäure.

6,7 g metallisches Natrium wurden in 100 ccm absolutem Alkohol gelöst und 50 g Iso-propyl-acetessigsäure-äthyl-ester vorsichtig hinzugefügt. In das unter laufendem Wasser abgekühlte Gemisch wurde trockenes Äthylnitrit-gas eingeleitet, und zwar in solchem Tempo, daß die Temperatur nicht über 40° stieg. Das kann leicht erreicht werden, wenn man das Gefäß zeitweise in kaltes Wasser versenkt. Den Ablauf der Umsetzung erkennt man daran, daß keine Erwärmung mehr stattfindet. Das Reaktionsgemenge blieb sodann eine Stunde stehen, worauf der Alkohol auf dem Wasserbade unter vermindertem Druck verdampft wurde. Der Rest enthielt das Natriumsalz des Oximino-di-methyl-brenztraubensäure-äthyl-esters, das in Wasser gelöst und mit verdünnter Schwefelsäure in der Kälte angesäuert wurde. Das sich abscheidende Öl wurde mit Äther extrahiert, die ätherische Schicht abgetrennt und mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Vertreiben des Äthers wurde das zurückbleibende Öl in vacuo destilliert. Das Oximino-derivat siedete zwischen 128 und 131° bei 12 mm Druck. Die Ausbeute betrug 34 g. Das Produkt erstarrte vollkommen im Eisschrank, aber bei gewöhnlicher Temperatur schmolz es teilweise; es kann sein, daß eine geringe Verunreinigung daran schuld ist. Wenn ein Teil davon auf einem Tonteller getrocknet und aus Petroläther kristallisiert worden war, so verflüssigte sich die Verbindung bei 58°. [Der von *L. Bouveault* und *A Wahl*[2]) für die auf andere Weise bereitete Verbindung angegebene Schmelzpunkt ist 55°.]

Der Oximino-iso-valeriansäure-äthylester löste sich in Alkali mit schwach gelber Farbe und war unlöslich in Natriumcarbonat.

36 g des Oximino-körpers wurden mit 80 ccm Ameisensäure[3]) von 15 Proz. Wassergehalt gemischt. Die ganze Flüssigkeit wurde darauf in zwei gleiche Teile zerlegt, und jede Hälfte mit 20 g Nitrosylsulfat in der Art versetzt, daß in die mit einer Kältemischung bis auf 0° abgekühlte ameisensaure Lösung portionsweise 1 bis 2 g Nitrosylschwefelsäure eingetragen wurden. Die Temperatur darf nicht + 5° übersteigen; man wartet, bis die hinzugefügte Nitrosulfonsäure jedesmal

[1]) *C. Neuberg* u. *E. Reinfurth*, d. Zeitschr. 89, 413, 1918; Ber. 53, 1039, 1920.

[2]) *L. Bouveault* und *A. Wahl*, Chem. Centralbl. **1901**, I, 726.

[3]) Nach dem Vorgehen von *L. Bouveault* und *R. Locquin*, ebendaselbst **1904**, II, 1706.

vollkommen gelöst ist, bevor weiter Bleikammerkristalle hinzugegeben werden. Mit Eis allein ist es schwer, die Temperatur unter 5° zu halten; deshalb ist die Anwendung einer Kältemischung empfehlenswert. Die ganze Verarbeitung dauert 1 bis 1½ Stunden. Nachdem der Zusatz von Nitrosylsulfat beendet ist, entfernt man das Reaktionsgefäß aus dem Kühlbade und läßt es bei Zimmertemperatur eine Stunde lang stehen. Dabei wurde die Flüssigkeit, welche in der Kälte grünlichblau gefärbt war, hellgelb; sie wurde alsdann in 400 ccm Eiswasser gegossen. Da der α-Keto-ester sich nicht unbeträchtlich in Wasser löst, so wurde kein Öl in größerer Menge abgeschieden. Die wässerige Flüssigkeit wurde deshalb mit reichlich Äther ausgeschüttelt und die ätherische Schicht abgetrennt. Die Extraktion wurde dreimal wiederholt und nunmehr der Äther verjagt. Die noch vorhandene Ameisensäure wurde darauf vorsichtig auf dem Wasserbade bei 50° unter vermindertem Druck entfernt. Der Kolbeninhalt wurde nachher in 120 ccm Äther aufgenommen und die ätherische Lösung mit 20proz. Natriumcarbonat ausgeschüttelt, um die freie α-Ketosäure, die gleichzeitig entstanden war, zu isolieren. Die Natriumcarbonatlösung wurde gesammelt und weiter verarbeitet, wie später gezeigt werden wird, während die ätherische Lösung mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet und bei Unterdruck fraktioniert wurde. Der Keto-ester siedete konstant bei 72° unter 12 mm Druck. Die Ausbeute belief sich auf 13,5 g. Das Semicarbazon schmolz nach Kristallisation aus heißem Alkohol bei 102 bis 103°; es schied sich in schönen prismatischen Nadeln ab.

Zur Gewinnung der freien Di-methyl-brenztraubensäure wurden 13 g ihres Esters mit 200 ccm einer 5proz. Kaliumhydroxydlösung versetzt. Die Lösung erwärmte sich etwas; sie wurde über Nacht sich selbst überlassen und am nächsten Morgen mit der vorher (s. oben) abgetrennten Natriumcarbonatlösung der α-Ketosäure gemischt. Die ganze Flüssigkeit wurde in der Kälte mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mehrere Male mit Äther extrahiert. Der ätherische Auszug wurde über geglühtem Glaubersalz getrocknet und fraktioniert. Die Verbindung siedete bei 76 bis 78° unter 11 mm Druck und erstarrte in der Kälte (Wasserkühlung), dagegen wurde sie bei Zimmertemperatur wieder flüssig. Die Ausbeute war 9 g.

Die Substanz, die *Rassow* und *Bauer* (l. c.) beschrieben haben, war auch fest, aber ihr Siedepunkt soll sich von 60 bis 100° erstreckt haben, während er in meinem Falle bei 76 bis 78° lag. Sicherlich war die Di-methyl-brenztraubensäure, mit der ich gearbeitet habe, rein.

### II. Gärung der Di-methyl-brenztraubensäure.

2,33 g Di-methyl-brenztraubensäure in 100 ccm destilliertem Wasser (m/5) dienten als Ausgangslösung für die meisten Proben.

*Versuch 1.*

5,0 ccm der m/5 Di-methyl-brenztraubensäure, 8,0 ccm Wasser, 1,0 ccm Acetat-puffer sowie 1,0 ccm m-Dinatriumsulfit wurden mit 2,5 g Patzenhofer Trockenhefe zuerst in einem Reagenzglase geschüttelt und dann in ein Eudiometer übergeführt. Die eingefüllte Menge machte 12,0 ccm aus. Das Eudiometer stand 18 Stunden lang im Brutschranke bei 35⁰. Es wurden 15,8 ccm $CO_2$ bei 20⁰ unter 764 mm Druck erhalten, während in einem Kontrollversuche unter denselben Bedingungen, aber ohne Ketosäure, aus meinem Hefenmaterial kein Gas entwich. Die Gärung war ziemlich lebhaft verlaufen.

*Versuch 2.*

5,0 ccm der α-Ketosäurelösung, 5,0 ccm m/5 Dinatriumphosphat, 5,0 ccm Leitungswasser und 2 g Trockenhefe wurden wie vorher in einem Reagenzglase zusammengebracht; 12,0 ccm wurden in ein Gasmeßrohr gefüllt. Die Gärung begann fast sofort, in diesem Falle schneller als in Versuch 1. Das Eudiometer wurde bei 35⁰ im Thermostaten stehengelassen. 20,1 ccm Kohlendioxyd wurden bei 20⁰ und 763 mm Druck gesammelt; in ¾ Stunden waren schon 11,0 ccm Gas entwickelt gewesen.

*Versuch 3.*

15,0 ccm m/5 Ketosäurelösung, 15,0 ccm m/5 Dinatriumphosphat und 15,0 ccm Wasser wurden mit 6 g Trockenhefe in einer Flasche gut durchgeschüttelt und bei 35⁰ 18 Stunden im Wärmekasten digeriert. Am nächsten Morgen wurde der Flascheninhalt in einen Destillationskolben gebracht und wie gewöhnlich über Calciumcarbonat im Dampfstrom destilliert. Im Übergegangenen, das nach Iso-butyl-aldehyd roch (400 ccm), wurde mittels Kalium-pyro-sulfitlösung und jodometrischer Rücktitration der Aldehydgehalt ermittelt. Die gewonnene Menge Iso-butyl-aldehyd belief sich auf 0,106 g; die nach der Theorie denkbare Quantität ist 0,216 g.

*Versuch 4.*

15,0 ccm der m/5 α-Ketosäurelösung wurden mit 3,0 ccm Acetatpuffer, 3,0 ccm m-Dinatriumsulfitlösung, 24 ccm Wasser und 6 g Trockenhefe bei 35⁰ einen Tag in Berührung gelassen. Destillation des Reaktionsgemisches mit Calciumcarbonat im Wasserdampfstrom wie üblich. Das Destillat wurde mit Wasser auf 650 ccm gebracht und die Menge von Iso-butyl-aldehyd wie zuvor bestimmt. Es ergaben sich 0,161 g Iso-butyl-aldehyd gegenüber 0,216 g der Theorie. Das entspricht einer Ausbeute von 75 Proz.

Bei Benutzung von Dinatriumphosphat, wie in Versuch 3, war der Ertrag an Iso-butyl-aldehyd nur 49 Proz.

Es ist festzustellen, daß, wenn die Gärung in Anwesenheit von Sulfit vorgenommen wird, man kaum einen Geruch nach Iso-butyl-aldehyd wahrnimmt, während sich bei Phosphat-pufferung der Geruch danach schon in 5 Minuten verbreitet. Das zeigt wieder die Bedeutung der schwefligsauren Salze als Abfangmittel für biochemisch entstehende Aldehyde; die schwefligsauren Salze sind in bestimmter Form anwendbar, ohne daß der Gärungsvorgang unterbunden wird.

Um den Aldehyd sicher zu identifizieren, wurden Teile von den Destillaten der Versuche 3 sowie 4 mit einer essigsauer-alkoholischen Auflösung von p-Nitrophenylhydrazin versetzt und mit einem Glasstabe umgerührt. Alsbald trat eine kristallinische Fällung von orange-gelber Farbe auf. Das aus verdünntem Alkohol umkristallisierte Hydrazon[1]) schmolz bei 132°.

Die Analysen ergaben folgende Daten:

0,1520 g Substanz lieferten 0,3216 g $CO_2$ und 0,0909 g $H_2O$.
0,0853 g Substanz entwickelten 15,8 ccm $N_2$ (24°, 754 mm).
$C_{10}H_{13}N_3O_2$: Ber. C = 57,90; H = 6,30; N = 20,29 Proz.;
gef. C = 57,71; H = 6,64; N = 20,50 Proz.

---

[1]) Vgl. *H. D. Dakin*, Journ. of biol. Chem. **4**, 236, 1908.

# Über den Einfluß verschiedener Kohlehydrate und Aminosäuren auf Blut- und Harnzucker des gesunden Organismus.

Von

**A. Schätti.**

(Aus der medizinischen Universitäts-Poliklinik Zürich.)

*(Eingegangen am 13. September 1923.)*

Mit 17 Tabellen im Text.

## Einleitung.

Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Kohlehydrate auf Blut- und Harnzucker liegen aus den letzten Jahrzehnten in großer Anzahl vor. Es wurden Versuche unter den mannigfaltigsten Bedingungen ausgeführt, sowohl an Gesunden wie an Kranken, um einen Einblick in die Physiologie und Pathologie des Kohlehydratstoffwechsels zu erhalten. Trotzdem harren noch wichtige Fragen der Aufklärung. So bestehen über die Beziehung zwischen aufgenommener Nahrung und Blutzucker einerseits und Harnzucker andererseits noch keine exakten Kenntnisse.

Die Ursache hierfür liegt hauptsächlich im Mangel an einer zuverlässigen Methode zur Bestimmung des Harnzuckers. Bekanntlich zeigen die üblichen Reduktionsmethoden die kleinen Zuckerquantitäten, die normalerweise im Urin vorkommen, gar nicht, oder nur ungenau an, wegen der Reduktion durch die gärungsfähigen Substanzen, die im Harn in viel größerer Menge vorkommen als im Blut. Es handelt sich hauptsächlich um Kreatin, Kreatinin, Harnsäure u. a. Bei der Vergärung dagegen, die zwar charakteristisch ist für Traubenzucker, ist die Menge der freiwerdenden Spaltprodukte (Alkohol und Kohlensäure) so gering, daß eine einwandfreie Messung unter physiologischen Bedingungen nur schwer gelingt. Der qualitative Zuckernachweis besitzt außerdem noch den Nachteil, abhängig von der Konzentration und damit von der Diurese zu sein, weshalb er ein durchaus verwischtes Bild von der Art und Größe der Zuckerausscheidung gibt. Für die quantitativen Untersuchungen waren andererseits bis jetzt so große Urinmengen nötig, daß Serienbestimmungen nicht auszuführen waren.

Vor 2 Jahren haben *Benedict* und *Osterberg* ein kolorimetrisches Verfahren ausgearbeitet, welches eine quantitative Zuckerbestimmung in kleinen Harnmengen ermöglicht.

Obwohl auch diese Methode neben vergärbarem Zucker auch noch gewisse andere reduzierende Substanzen bestimmt, so besitzt sie andererseits den großen Vorzug, daß sie nur einige Kubikzentimeter Urin benötigt und die Ausführung einfach und daher zu Serienuntersuchung geeignet ist. Damit ist die Möglichkeit gegeben, die Untersuchung in kurzen Intervallen vorzunehmen. Die Methode liefert gute, wenn auch etwas zu hohe Vergleichswerte. (Beschreibung und Kritik der Methode s. bei *G. Constam*, Zürich.)

Unter Benutzung der *Benedict*schen Methode für Harnzucker und der *Bang*schen Methode für Blutzucker wurde der Einfluß einer Anzahl reiner Kohlehydrate und Aminosäuren auf Blut- und Harnzucker untersucht, und zwar Blut und Harn in möglichst engen Intervallen. Nur so ist es möglich, einen Einblick in die Beziehungen zwischen Blut- und Harnzucker unter physiologischen Bedingungen zu erhalten.

Eine solche Versuchsreihe mit kombinierten Blut- und Harnzuckerbestimmungen in kleinen Abständen und nach Genuß der noch physiologischen Mengen von nur 20 g der zu prüfenden Substanzen ist bis jetzt noch nie durchgeführt worden. Es werden mit der *Benedict*schen Methode nur die reduzierenden Zucker bestimmt. Da aber unter physiologischen Bedingungen Di- und Polysaccharide im Darme vor dem Übertritt in die Blutbahn gespalten werden, so eignet sich die Methode für die vorliegende Fragestellung.

### Versuchsanordnung.

Die Bestimmung des Blutzuckers geschah mit der *Bang*schen Mikromethode, älteres Verfahren.

Für den Nachweis des Harnzuckers wurde die Pikrinsäuremethode von *Benedict* und *Osterberg* (1921) verwendet.

Sämtliche Versuche sind am gleichen, gesunden 25jährigen Individuum ausgeführt worden. Gewicht 56 kg, Körpergröße 156 cm.

Die Vorbedingungen waren stets dieselben. Am Abend vor dem Versuch wurde durchweg die gleiche Mahlzeit eingenommen, in Anbetracht der Beeinflussung des Blutzuckers durch die vorausgegangene Nahrung.

Nach dem Vorschlag *Punschels* bestand die Standardmahlzeit aus:

| | |
|---|---|
| Nudeln . . . . . . . . | 50 g |
| Apfelkompott . . . . . | 200 g |
| Milch . . . . . . . . . | 250 g |

13 bis 15 Stunden nach dieser letzten Nahrungsaufnahme wurden die Versuche vorgenommen. Nach Ablauf dieser Nüchternzeit ergaben sich nach *Staub* die stärksten Anstiege im Blutzucker.

Der Blutzucker wurde während 2½ Stunden verfolgt (in der *ersten* ½ Stunde alle 10 Minuten, nachher alle 15 Minuten), der Harnzucker zweimal vorher und während 3½ bis 4 Stunden (halbstündlich) nach der Kohlehydrateinnahme.

### Versuche.

Es wurden Versuche mit folgenden Kohlehydraten und Aminosäuren gemacht:

| | | Anzahl der Versuche |
|---|---|---|
| *A. Monosaccharide*: | Lävulose | 1 |
| | Galaktose | 1 |
| | Glucose | 3 |
| *B. Disaccharide*: | Saccharose | 2 |
| | Lactose | 1 |
| *C. Polysaccharide*: | Lösliche Stärke | 3 |
| | Weizenstärke | 2 |
| *D. Aminosäuren*: | Alanin | 2 |
| | Glykokoll | 2 |
| *E. Pepton* | | 1 |
| *F. Kontrollversuch mit Kaffee* | | 1 |

Von sämtlichen Substanzen (mit Ausnahme der letzten zwei) wurden je 20 g in etwa 100 ccm Wasser eingenommen.

### A. Monosaccharide.

*Lävulose.*

Lange Zeit studierte man den Einfluß der verschiedenen Kohlehydrate nur auf den Harnzucker. Die ersten systematischen Versuche stammen von *Strauss*. Als Versuchsobjekte dienten ihm Individuen, die, ohne Diabetiker zu sein, zu alimentärer Glykosurie neigten. Es wurden dabei stets mehrere Zuckerarten am gleichen Individuum ausprobiert, und zwar in Mengen von 100 g. Das Resultat ergab, daß Galaktose und Glucose am leichtesten ausgeschieden wurden, dann folgten Saccharose, Amylum, Lactose, während Lävulose vom Organismus am besten ertragen wurde.

Andere Autoren waren zu etwas anderen Ergebnissen gekommen. Es nahm die Toleranz für Kohlehydrate in folgender Reihenfolge zu:

| nach *Worm-Müller* | *v. Noorden* | *Hofmeister* (an Hunden) |
|---|---|---|
| Glucose | Lactose | Galaktose |
| Saccharose | Saccharose | Lactose |
| Lactose | Lävulose | Glucose |
| | Glucose | Lävulose |
| | | Saccharose |

Immerhin scheint für die Lävulose festzustehen, daß sie eine hohe Assimilationsgrenze besitzt.

Diese Anschauung erhielt eine wichtige Stütze durch die Versuche von *Mering* und *Minkowski* an pankreaslosen Hunden und ferner durch die Beobachtungen an Diabetikern; denn in beiden Fällen konstatierte man, daß die Assimilationsfähigkeit für Fruchtzucker noch vorhanden sein kann, wenn sie für Glucose bereits erloschen ist. Auch darin sind die Untersucher einig, daß die Lävulose als solche im Urin ausgeschieden wird, wo sie mit der *Seliwanow*schen Probe nachgewiesen werden kann.

Als dann *Strauss* die Beobachtung machte, daß Leberkranke eine herabgesetzte Toleranz für dieses Kohlehydrat haben, folgten zahlreiche Versuche, die alle den Zweck hatten, eine brauchbare Methode zur Funktionsprüfung der Leber auszuarbeiten.

Daß die Leber bei der Verwertung des Fruchtzuckers eine große Rolle spielt, dafür sprechen nebst anderen Beobachtungen die Versuche von *Sachs*. Dieser konnte zeigen, daß bei entleberten Fröschen aus Fructose

im Gegensatz zu Glucose kein Glykogen mehr gebildet werden kann. Ferner sei auf die Untersuchungen *Isaacs* hingewiesen, welcher fand, daß in der künstlich durchströmten Leber aus Lävulose rasch Dextrose gebildet wird und daß diese Fähigkeit ausschließlich an die Leberzelle gebunden ist. Die bei Leberkranken auftretende Toleranzverminderung gegenüber Lävulose wäre demnach auf die Unfähigkeit des Organismus, aus Fruchtzucker Dextrose bzw. Glykogen zu bilden, zurückzuführen.

Seitdem jedoch *Wörner* festgestellt hat, daß auch 80 Proz. der Gesunden nach Einnahme von 100 g Lävulose mit Lävulosurie reagieren, hat dieser Zucker für die Leberfunktionsprüfung an Bedeutung verloren. Da auch andere Untersucher zu ähnlichen Resultaten kamen, wird heute ziemlich allgemein angenommen, daß die Toleranz für dieses Kohlehydrat nicht besonders groß und auf alle Fälle kleiner als für Traubenzucker ist.

Blutzuckerversuche mit Lävulose wurden zuerst von *Schirokauer* ausgeführt, und zwar an Gesunden. 1 Stunde nach Verabreichung von 100 g dieses Zuckers wurde der Blutzucker nach dem *Bertrand-Möckel*schen Verfahren bestimmt.

Das Resultat ergab in sieben von acht Fällen Hyperglykämie und einmal positiven Nylander im Harn.

Systematische Untersuchungen wurden erst nach Einführung der *Bang*schen Mikromethode möglich. Mit derselben hat *Bergmark* den Einfluß von 50 g Fructose auf den Blutzuckerspiegel studiert. Da er einen bedeutend geringeren Anstieg erhielt, als nach der gleichen Menge Glucose, nahm er an, daß ein Teil des Zuckers in der Leber zurückgehalten werde. Mit der Resorptionsgeschwindigkeit schien dies wenigstens nicht im Zusammenhang zu stehen; denn Versuche an Hunden, denen in abgeschnürte Dünndarmschlingen je entsprechende Mengen einer Glucose und Lävuloselösung injiziert wurden, ergaben nur eine geringe Differenz in der Resorptionsgeschwindigkeit dieser beiden Kohlehydrate.

*Graham* fand nach Zufuhr von je 100 g Dextrose und Lävulose nach letzterer, trotz des geringeren Anstieges, eine positive Glykosurie in den ersten 40 Minuten. Die Anwesenheit von Lävulose im Urin konnte mit der *Seliwanow*schen Probe nachgewiesen werden. Nach Glucose trat keine Glykosurie auf.

Indessen scheint es Individuen zu geben, deren Blutzuckerspiegel von Lävulose nicht beeinflußt wird (*Traugott Maclean*). Nach *Gottschalk* und *Strecker* soll das beim gesunden Organismus sogar durchwegs der Fall sein. Eine Steigerung über 33 Proz. wird von ihnen schon nicht mehr zum Physiologischen gerechnet. Daß man jedoch die Grenzen nicht zu eng ziehen darf, dafür spricht unter anderem auch der vorliegende Versuch.

## Eigener Versuch.

Es wurden unter den üblichen Bedingungen 20 g Lävulose in 100 ccm Wasser genommen.

*Blutzucker.* Wie aus Tabelle I zu sehen ist, verläuft der erste Teil der Kurve ähnlich wie im Glucoseversuch (Tabelle III), d. h. rascher Anstieg, Maximum nach 30 Minuten und Rückkehr zur Norm nach 75 Minuten: Dann aber folgt eine erhebliche zweite Zacke, wie sie sonst bei keinem anderen Zucker zu finden ist. Die Steigerung beträgt 60 Proz., ist also etwas geringer als nach Traubenzucker, aber doch recht erheblich.

*Harnzucker.* Die geringere Toleranz für Lävulose tritt aus vorliegendem Harnzuckerversuch mit Deutlichkeit hervor. Schon in der zweiten halben

Stunde ist das Maximum der Zuckerausscheidung erreicht, und, obwohl die Hyperglykämie geringer ist, als beim entsprechenden Glucoseversuch, übertrifft die pro Minute ausgeschiedene Zuckermenge diejenige des letzteren. Daß es dabei zu einer positiven Reduktionsprobe kommt, beruht jedoch nicht auf dieser geringen Differenz, sondern nur auf der starken Konzentration des Urins.

Wie man fast durchweg beobachten kann, ist die Diurese während der Dauer der Hyperglykämie eher herabgesetzt, weil der Organismus offenbar das Bestreben hat, das Wasser zurückzuhalten, um das mit Zucker überschwemmte Blut nicht noch mehr zu konzentrieren. Das Wasser wird infolgedessen erst ausgeschieden, wenn der Blutzuckerspiegel den Nüchternwert wieder erreicht hat, was im allgemeinen nach 90 Minuten der Fall ist. Da nun aber der Fruchtzucker den Körper früher verläßt, muß es notwendigerweise zu einer Konzentration kommen, die auch einen quali-

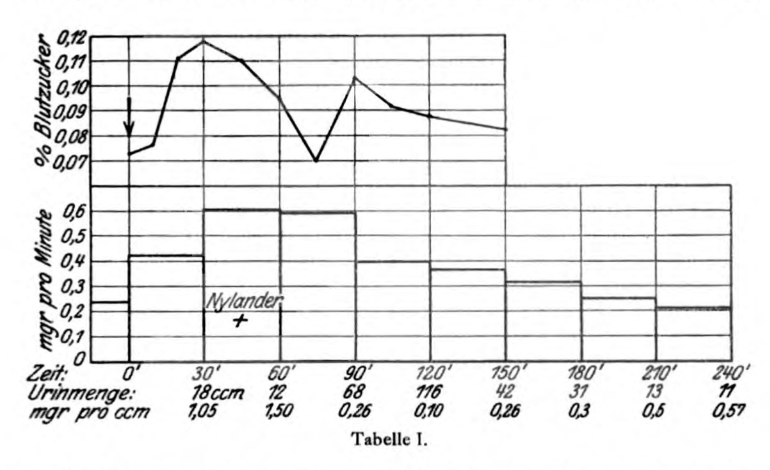



Tabelle I.

tativen Zuckernachweis gestattet. Zugleich ein Beweis für die Unabhängigkeit der Zuckerausscheidung von der Diurese.

Allerdings muß gesagt werden, daß der Nachweis von Lävulose im Harn mit der *Seliwanow*schen Reaktion nicht erbracht werden konnte, wegen der geringen Urinmenge, die nur für die *Nylander*sche Probe noch hinreichte. *Folin* und *Berglund* behaupten sogar, es handle sich bei dieser reduzierenden Substanz nicht um Lävulose, sondern um andere Kohlehydrate. Diese Autoren konnten nach Verabreichung von 200 g dieses Zuckers trotz positiver Reduktionsprobe Lävulose nach *Seliwanow* nicht nachweisen. Im Gegensatz zu ihnen stehen jedoch zahlreiche andere Untersucher, denen dieser Nachweis schon nach Zufuhr von geringeren Mengen gelungen ist (*v. Noorden*, *Graham*, *Wörner* u. a.). Gestützt auf die Ergebnisse dieser Autoren, darf man wohl annehmen, daß es sich auch im vorliegenden Versuch zum großen Teil um Lävulose handelt.

## Zusammenfassung.

Aus den Untersuchungen über den Einfluß der Lävulose auf Blut- und Harnzucker scheint hervorzugehen, daß der gesunde Organismus auf die perorale Zufuhr von 20 g und mehr Lävulose in den meisten Fällen, aber nicht immer, mit einer Steigerung des Blutzuckers reagiert.

Diese Steigerung kann recht erheblich sein, erreicht aber nicht die Größe derjenigen nach der entsprechenden Menge Glucose.

Die Lävulose wird schneller ausgeschieden und in größerer Menge als Traubenzucker, es kann daher schon nach 20 g zu einer qualitativ nachweisbaren Zuckerausscheidung kommen. Die Toleranzgrenze liegt somit niedriger als bei der Glucose.

## Galaktose.

Schon im Jahre 1889 stellte *Hofmeister* fest, daß bei Hunden die Galaktose am schlechtesten assimiliert wurde.

Das gleiche Verhalten konnte *Strauss* 1898 für den Menschen nachweisen. Praktisches Interesse erhielt die Galaktose aber erst durch die Beobachtung *Bauers* (1906). Dieser fand die Toleranz für dieses Kohlehydrat bei Leberkranken noch stärker herabgesetzt als für Lävulose. Starke Galaktosurie trat dabei hauptsächlich bei Parenchymschädigungen der Leber auf, besonders bei Icterus catarrhalis.

Dadurch eignet sich die Galaktose in noch höherem Maße als die Lävulose zur Leberfunktionsprüfung; denn sie läßt zugleich noch gewisse differentialdiagnostische Schlüsse ziehen.

*Bauers* Resultate wurden dann von zahlreichen Autoren nachgeprüft und bestätigt (*Reiss* und *Jehn*, *Roubitschek*, *Wörner* u. a.).

Es scheint heute festzustehen, daß eine Ausscheidung von mehr als 2 g innerhalb 12 Stunden nach Genuß von 40 g Galaktose für eine Funktionsstörung der Leber spricht.

Während in älteren Arbeiten die Toleranz des Gesunden zu 30 bis 40 g angenommen wurde, setzte sie *v. Noorden* 1910 auf 20 g herunter. Nach *Hoffmann* tritt Galaktosurie schon nach einer Zufuhr von über 15 g auf, und *Folin* und *Berglund* nehmen sogar an, daß die Galaktose überhaupt keine Nierenschwelle besitze, weil sie schon nach 10 g eine deutliche Ausscheidung beobachten konnten.

Blutzuckerversuche mit Galaktose sind nur selten gemacht worden. Als erster hat *Hoffmann* (1914) konstatiert, daß nach Verabreichung von mehr als 15 g in den meisten Fällen eine geringe Hyperglykämie auftrat (es wurden hauptsächlich die Werte des Plasmas berücksichtigt). Aus neuerer Zeit liegen noch einige Untersuchungen von *Kahler* und *Machold*, sowie von *Folin* und *Berglund* vor.

Die ersteren beobachteten eine maximale Blutzuckerzunahme von 0,3 Proz. nach 40 g Galaktose. Auch die letzteren erhielten nur geringe Hyperglykämie nach 100 g.

Diese Autoren machten bei ihren Versuchen die interessante Beobachtung, daß nach 100 g Galaktose eine bedeutend stärkere Zuckerausscheidung eintritt, als nach 200 g Lactose (= 100 g Galaktose), oder gar nach 100 g Glucose + 100 g Galaktose. Es ist daher anzunehmen, daß die Verwertbarkeit der Galaktose abhängig ist von der Gegenwart verfügbarer Glucose.

### Eigener Versuch.

In Übereinstimmung mit den früheren Untersuchungen ist auch hier nach Genuß von 20 g Galaktose nur ein geringer Anstieg des Blutzuckers zu verzeichnen. Die Zunahme beträgt bloß 0,026 Proz. (Tabelle II).

Dagegen ist die Ausscheidung eine recht beträchtliche, und zwar beginnt sie schon in der ersten halben Stunde, erreicht in den nächsten 30 Minuten den Höhepunkt und sinkt dann in der dritten halben Stunde gleichzeitig mit dem Blutzucker zur Norm zurück.

Man hat in der Tat den Eindruck, daß dieses Kohlehydrat aus dem Blut direkt durch die Nieren abläuft (im Gegensatz zu den anderen Zuckerarten).

Wenn dabei nur ein kleiner Teil der zugeführten Menge eliminiert wird, hängt das einerseits mit der schwereren Resorbierbarkeit der Galaktose

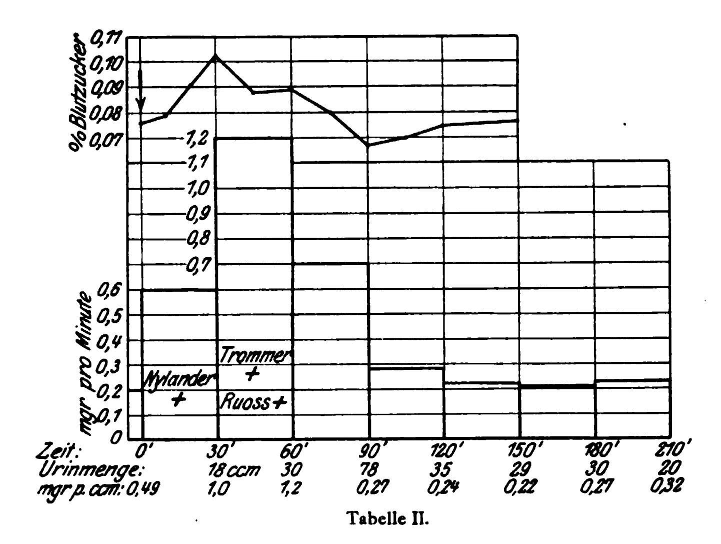



Tabelle II.

zusammen, andererseits ist anzunehmen, daß ein Teil in der Leber zurückgehalten und dort in Glykogen verwandelt wird.

Schon *Kausch* und *Socin* haben an Hunden zeigen können, daß die Galaktose als Glykogenbildner in Betracht kommt, und zwar sowohl in der Leber wie in der Muskulatur. Dagegen verlegt *Tischler* die Glykogenisierung ausschließlich in die Leber. Für letzteres spricht die herabgesetzte Toleranz Leberkranker.

### Zusammenfassung.

20 g Galaktose rufen beim Normalen nur eine geringe Steigerung des Blutzuckers hervor. Dagegen findet in den ersten 90 Minuten eine erhebliche Ausscheidung statt, die auch qualitativ nachweisbar ist.

Man hat den Eindruck, als ob dieser Zucker aus dem Blute direkt durch die Nieren abfiltriere.

### Glucose.

Da *G. Constam* das Verhalten von Blut- und Harnzucker nach Einnahme von Traubenzucker in einer besonderen Arbeit beschrieben hat, sei hier nur kurz auf die Ergebnisse der eigenen Versuche eingegangen.

Es wurden drei Blutzuckerversuche mit 20 g Glucose gemacht. Tabelle III und IV. Die Kurven verlaufen ziemlich parallel; der Nüchternwert liegt durchweg tief, das Maximum des Anstiegs ist nach 30 Minuten erreicht.

Es folgt dem Stadium der Hyperglykämie eine leichte Hypoglykämie, worauf nach 120 Minuten der Blutzucker sich zu einer kleinen zweiten Zacke erhebt. Nach 2½ Stunden ist der Nüchternwert wieder erreicht.

Es sieht aus, als ob nach dem ersten großen Anstieg die den Zucker assimilierenden Organe etwas über das Ziel hinausschießen würden, wodurch es zu einer Hypoglykämie kommt. Diese übt dann vielleicht ihrerseits einen Reiz aus, der zu einer Ausschüttung von Zucker führt, die sich in der zweiten Zacke manifestiert, also gleichsam ein Pendeln um den Nüchternwert. Etwas auffällig ist die starke Steigerung von über 80 Proz.

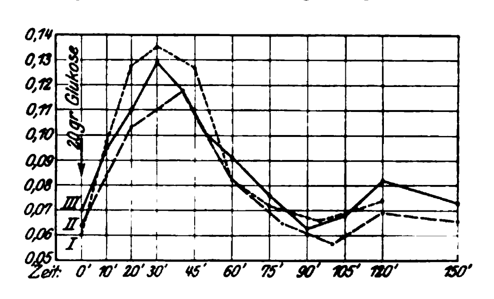



Tabelle III.

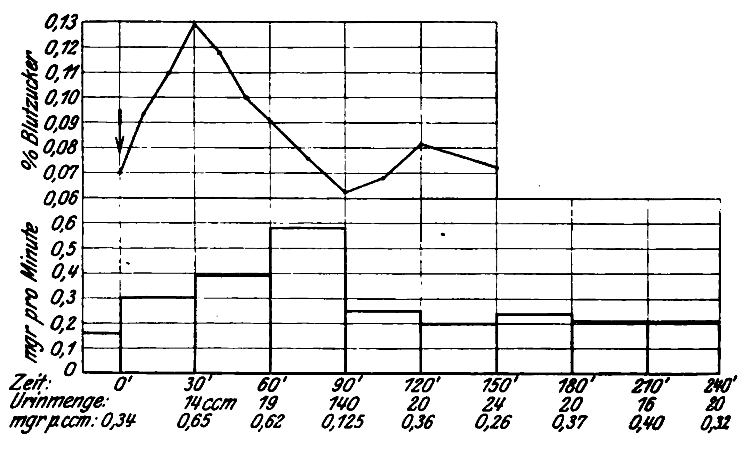



Tabelle IV.

*Eisner* will solches Verhalten des Blutzuckers besonders oft bei Neurasthenikern und speziell bei Sympathikotonikern beobachtet haben, ebenso *Offenbacher* und *Hahn*.

Interessanter ist die Harnzuckerkurve (s. Tabelle IV).

Mit steigendem Blutzucker steigt auch der Harnzucker, aber ganz allmählich. Man beachte, daß es nicht zu einer plötzlichen Ausscheidung kommt, bei einer gewissen Höhe der Hyperglykämie.

Das Maximum der Glykurese fällt zusammen mit dem Minimum des Blutzuckerspiegels, was schon *Frank* (1911) beobachtet hat. Diese Verschiebung spricht wohl eher für eine aktive Zellarbeit, als für bloße Filtration. Man kann sich vorstellen, daß die Nieren ebenso wie die Leber und die

anderen Zucker assimilierenden Gewebe den Zucker aus dem Blute aufnehmen, ihn aber dann wieder ganz oder teilweise ausscheiden. Diese Prozesse bewirken zusammen die rasche Beseitigung des überschüssigen Blutzuckers. Da die größte Zuckerausscheidung gleichzeitig ist mit dem Maximum der Diurese, wird ein qualitativer Nachweis unmöglich.

### Zusammenfassung.

Nach 20 g Glucose erfolgt stets ein starker Blutzuckeranstieg und eine Zunahme der Harnzuckerausscheidung. Die Höchstwerte sind zeitlich gegeneinander verschoben.

Die Zuckerausscheidung scheint ein sekretorischer Vorgang zu sein.

## B. Disaccharide.

### *Rohrzucker.*

Während bei den Monosacchariden die Resorptionsgeschwindigkeit und damit die Veränderung des Blutzuckerspiegels nur vom Füllungszustand und der Motilität des Magendarmtractus abhängt, kommt bei den Disacchariden noch die Spaltung in die Komponenten dazu. Dieser Vorgang ist an die Anwesenheit gewisser Fermente gebunden und wird ferner durch die Azidität des Magens beeinflußt. Je nach der Intensität dieser Spaltung gehen die einzelnen Komponenten oder die ungespaltenen Produkte ins Blut und in den Urin.

Die Ansichten über die Art der Ausscheidung des Rohrzuckers waren früher sehr geteilt. Während *Worm-Müller* nach Verabreichung von 50 bis 250 g stets Rohrzucker im Urin gefunden haben will, konnten andere Autoren nur Glucose oder beides nachweisen.

Nach *v. Noorden* ist anzunehmen, daß die Disaccharide im Verdauungskanal in ihre Bausteine zerlegt und so resorbiert werden, in diesem Falle als Glucose und Lävulose. Nur nach Zufuhr großer Mengen treten sie ungespalten ins Blut und werden als vom Gewebe nicht angreifbar im Harn ausgeschieden. Daß die Saccharose sehr rasch gespalten und resorbiert wird, haben *Röhmann* und *Nagano* an Hunden beweisen können. Dafür spricht auch der starke und schnelle Anstieg des Blutzuckers.

So erhielt *Jacobsen* nach Verabreichung von 100 g eine Hyperglykämie von ähnlicher Größe und Dauer wie nach Glucose. Dabei trat keine Glykosurie auf. Zu übereinstimmenden Resultaten kamen *Eisner* und *Forster*, *Frank* und *Mehlhorn*. Letztere beobachteten an Kindern Ausscheidung von Glucose nach Zufuhr die Toleranz überschreitender Mengen.

### Eigene Versuche.

Die zwei in Tabelle V dargestellten Versuche sind in verschiedener Hinsicht interessant.

Auch hier verlaufen die Blutzuckerkurven nach je 20 g Rohrzucker parallel und ähnlich wie im Traubenzuckerversuch, doch mit dem Unterschied, daß die Steigerung geringer ist. Auffallend ist die Differenz der Nüchternwerte in den beiden Versuchen. Auch andere Autoren haben an ein und derselben Person solche Schwankungen des Blutzuckerspiegels gesehen, selbst wenn die Versuche unter den gleichen Bedingungen (vorausgegangene Mahlzeit, Dauer der Nüchternperiode usw.) ausgeführt worden waren.

*Strouse* und *Salomon* machen Witterungseinflüsse dafür verantwortlich. Die Beobachtungen bei der vorliegenden Versuchsreihe sprechen nicht in diesem Sinne. Wenigstens war die Außentemperatur ohne Einfluß. Dagegen scheint die Kohlehydratzufuhr an den vorausgehenden Tagen von Bedeutung zu sein, indem es durch reichlichen Kohlehydratgenuß zu einer Sättigung

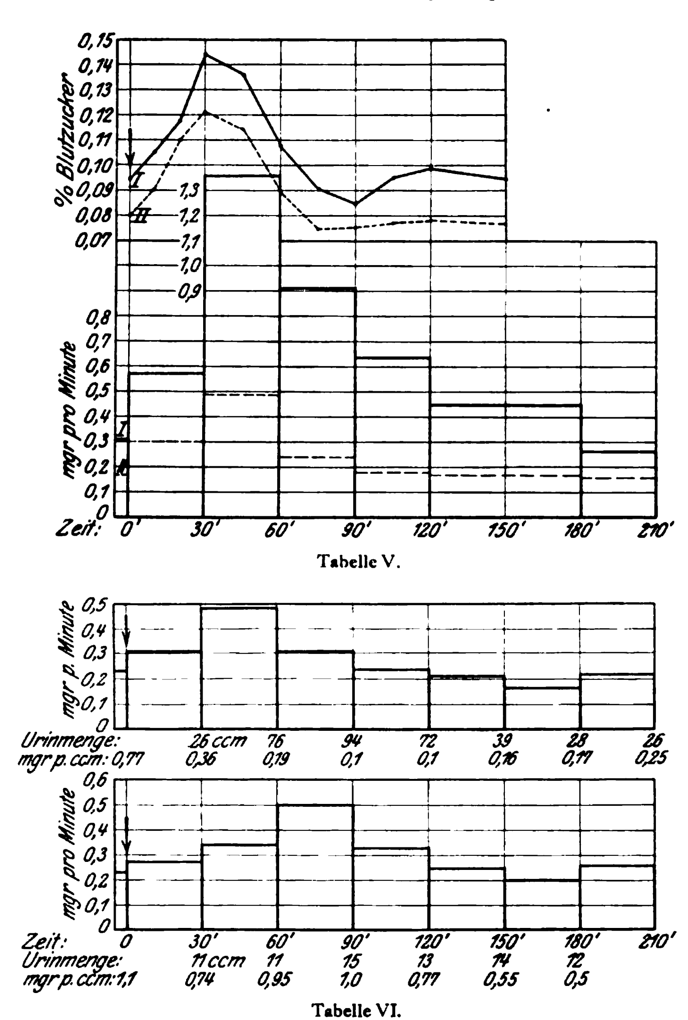



Tabelle V.

Tabelle VI.

der Gewebe mit Traubenzucker und dadurch zu einem Steigen des Nüchternwertes kommt.

Wird nun in einem solchen Zustande noch mehr Zucker (und zwar besonders Saccharose) zugeführt, so tritt eine erhebliche Zuckerausscheidung auf, wie aus Kurve I Tabelle V hervorgeht.

Gewisse Gründe sprechen dafür, daß der Hauptanteil des Harnzuckers in diesem Falle der *Lävulose* zuzuschreiben ist. So erstens die Beobachtungen

an Menschen, die an Fructosurie leiden. Bei diesen ruft Rohrzucker eine viel stärkere Ausscheidung von Fruchtzucker hervor, als Lävulose allein. *Barrenscheen* stellt sich vor, daß die Leberzellen durch den gleichzeitig angebotenen Traubenzucker „blockiert" werden. In unserem Falle wäre diese Blockierung oder vielleicht besser Sättigung der Gewebe durch die kohlehydratreiche Nahrung der Vortage zustande gekommen.

Zweitens wäre noch die rasche Ausscheidung anzuführen, mit dem Höchstwert in der zweiten Halbstunde. Wie wir auf Tabelle I gesehen haben, tritt die Lävulose schneller in den Harn über als die Glucose.

Im zweiten Versuch verläuft die Harnzuckerkurve entsprechend der geringeren Hyperglykämie bedeutend weniger steil, ebenso die Kurven auf Tabelle VI.

Von den letzteren stellt die untere einen Versuch dar mit 20 g ungelöstem Zucker (Würfelzucker). Infolge der verlangsamten Resorption ist die Ausscheidung verzögert, erreicht aber die gleiche Größe wie in Versuch 2 und 3. Wieder ein Beweis *für* die Unabhängigkeit der Zuckerausscheidung von der Diurese (letztere ist nur wenig vermehrt) und *gegen* die Filtration.

**Zusammenfassung.**

Nach 20 g Rohrzucker steigt der Blutzucker ebenso rasch wie nach Glucose und Lävulose, aber weniger hoch. Der Harnzucker nimmt entsprechend zu in der ersten Stunde.

Er besteht wohl zum größten Teil aus Lävulose.

Ungelöster Zucker ruft eine gleich große, aber verzögerte Ausscheidung hervor.

Die Zuckerausscheidung ist unabhängig von der Diurese.

**Lactose.**

Der Milchzucker ist relativ selten zu Versuchszwecken benutzt worden, weil er für die Frage des Kohlehydratstoffwechsels weniger bedeutungsvoll ist.

Es steht fest, daß er im Organismus nur dann verwertet werden kann, wenn er in seine Komponenten Glucose und Galaktose zerlegt ist. Gelangt er ungespalten ins Blut, z. B. nach Zufuhr größerer Mengen, oder bei Wöchnerinnen infolge Resorption aus der Brustdrüse, so wird er als solcher wieder ausgeschieden.

*Worm-Müller* fand nach Zufuhr von 200 g Lactose eine ungefähr gleich große Ausscheidung wie nach der entsprechenden Menge Rohrzucker, nach Zufuhr von 100 g war sie bedeutend kleiner. Nach diesem Autor war der ausgeschiedene Zucker Milchzucker. *Strauss* erhielt dagegen in seinen Versuchen mit 100 g Lactose nie Lactosurie. Über die Art der Ausscheidung bestehen also auch hier Differenzen, wie wir sie schon beim Rohrzucker gesehen haben.

Nach *v. Noorden* beträgt die Toleranzgrenze für Lactose 120 g. *Folin* und *Berglund* wollen dagegen schon nach weniger als 30 g Spuren von Milchzucker im Urin beobachtet haben. Da sie dabei eine Zunahme des Blutzuckers vermissen, ziehen sie den Schluß, daß für die Lactose ebenso wie für die Galaktose keine Nierenschwellung bestehe.

**Eigener Versuch.**

Wie aus Tabelle VII hervorgeht, kam es nach Genuß von 20 g Milchzucker zu einer deutlichen Erhebung des Blutzuckerspiegels, die ungefähr zwischen diejenige des Rohrzucker- und Galaktoseversuches zu stehen

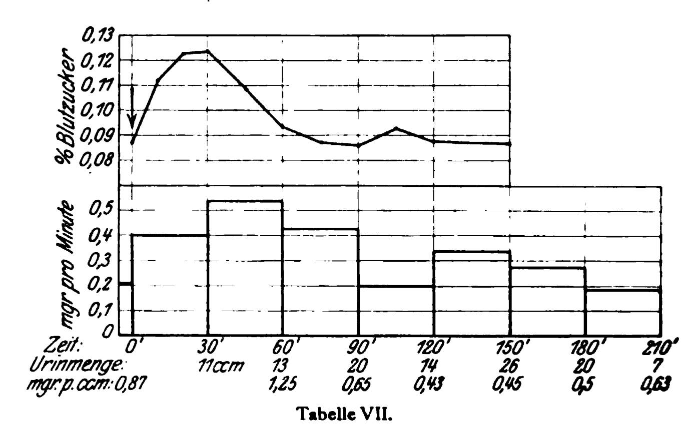


Tabelle VII.

kommt. Daß die Steigerung etwas geringer ist als nach Rohrzucker, hängt wahrscheinlich mit der langsameren Resorption und mit dem Galaktoseanteil des Milchzuckers zusammen. Ebenso zeigt der Harnzucker eine Zunahme. Die Kurve hat große Ähnlichkeit mit derjenigen des Rohrzuckerversuchs (vgl. Tabelle VI, Kurve II), doch ist die Ausscheidung noch etwas größer, was wohl auch dem Einfluß der Galaktose zuzuschreiben ist.

**Zusammenfassung.**

20 g Lactose rufen eine deutliche Hyperglykämie hervor.

Die Zuckerausscheidung ist entsprechend vermehrt und zeigt den gleichen Verlauf wie nach Rohrzucker, übertrifft dieselbe aber noch um ein geringes.

**C. Polysaccharide.**

*Stärke.*

Stärke muß als Polysaccharid im Verdauungskanal zuerst in Mono- und Disaccharide gespalten werden, da sie anders nicht resorbierbar ist. Nach *v. Noorden* ist die Assimilationsgrenze für Stärke beim Gesunden unendlich, d. h. es geht auch bei Zufuhr größter Mengen kein Kohlehydrat in den Urin über. Glycosuria ex amylo gilt als Diabetes verdächtig. *Naunyn* hält es sogar für ein sicheres diabetisches Symptom. Man stellt sich vor, daß die langsame Spaltung und Resorption Ursache der großen Toleranz ist. Dementsprechend sollte man auch eine verzögerte und geringere Steigerung des Blutzuckers erwarten.

In den Versuchen von *Jacobsen* mit 167 g Weißbrot (= 100 g Stärke) war der Anstieg auch tatsächlich in einzelnen Fällen verlangsamt, hingegen erreichte die Hyperglykämie eine Höhe, die derjenigen nach Glucose nahe oder gleich kam. Dasselbe fanden auch andere Autoren (*Welz*, *Eliassow*, *Maclean* und *Wesselow*). Daß trotzdem so selten Glykosurie auftrat, ist

nach *Frank* und *Mehlhorn* einem besonderen Einfluß der Stärke auf das Nierenfilter zuzuschreiben. Für andere ist es ein Beweis für die Unabhängigkeit des Harnzuckers vom Blutzucker.

Zum Teil scheint es jedoch auch an der Versuchsanordnung zu liegen. Viele Autoren pflegen den Gesamturin von 3 bis 4 Stunden nach der Kohlehydratzufuhr zu untersuchen, wobei zuckerreiche Portionen durch zuckerarme so verdünnt werden, daß der Nachweis unmöglich wird. Dies geschieht um so leichter, als oft eine beträchtliche Diurese nach Stärkegenuß einsetzt. *Frank* und *Mehlhorn* fanden die durchschnittliche Harnmenge nach Amylum 205 ccm gegenüber 147 ccm nach Rohrzucker. Untersucht man in kleinen Intervallen, so trifft man relativ häufig Glykosurie, wie *Jacobsen* gezeigt hat, welcher in 6 von 14 Fällen nach 100 g Stärke positive Reduktionsproben erhielt.

Vielleicht würde die systematische Untersuchung von Blut- und Harnzucker mit Bestimmung der in der Zeiteinheit ausgeschiedenen Kohlehydratmenge zur Klärung dieser Probleme beitragen.

## Eigene Versuche.

a) *Lösliche Stärke.* 20 g ist offenbar eine zu kleine Menge, um eine Hyperglykämie hervorzurufen, wie wir sie bei den anderen Kohlehydraten

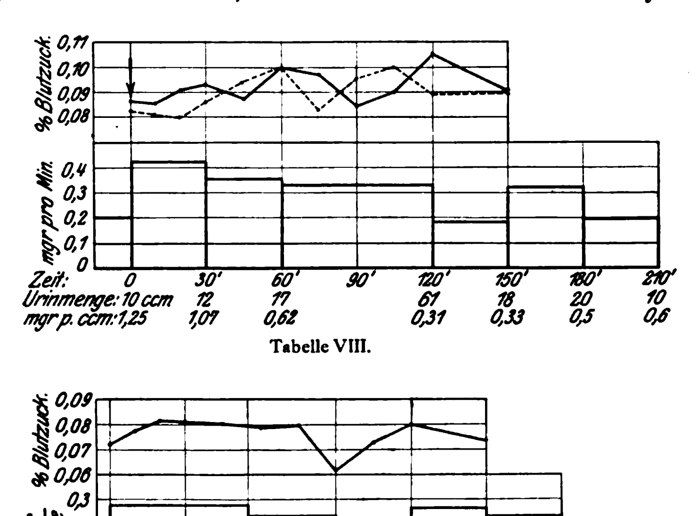



Tabelle VIII.



Tabelle IX.

erhalten haben. Man findet nur eine wellenförmige Bewegung des Blutzuckerspiegels (s. Tabelle VIII u. IX), deren einzelne Zacken vielleicht mit der schubweisen Entleerung des Magens zusammenhängen. Die Harnzuckerkurve ist ebenfalls unregelmäßig.

b) *Weizenstärke.* Außer einem kleinen Anstieg innerhalb der ersten 20 Minuten zeigt der Blutzucker keine Veränderungen (Tabelle X). Auch

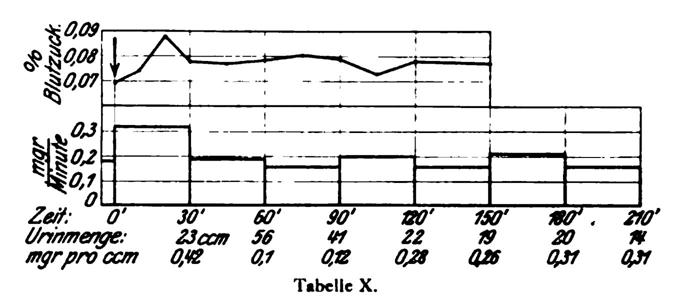


Tabelle X.

der Harnzucker weist nur am Anfang eine unbedeutende Zunahme auf. Das verschiedene Verhalten dieser beiden Polysaccharide wird wohl mit der Art der Resorption im Zusammenhang stehen.

## Zusammenfassung.

Nach Zufuhr von 100 g Stärke und mehr erfolgt eine beinahe ebenso große, aber oft etwas verzögerte Steigerung des Blutzuckers, wie nach 100 g Glucose.

Es scheint, daß bei Untersuchung des Urins in kleinen Abständen Glykosurie öfters beobachtet werden kann.

20 g Stärke rufen keinen deutlichen Anstieg des Blut- und Harnzuckers hervor.

## D. Aminosäuren.

Es ist schon lange bekannt, daß aus Eiweiß Glykogen und Zucker hervorgehen kann. Dafür sprechen die Beobachtungen an Diabetikern, welche nach Genuß von Albumen eine Zunahme der Glykosurie zeigen. Ferner können glykogenfreie Hunde nach ausschließlicher Eiweißverfütterung Glykogen neubilden. Wie *Ringer* und *Lusk* nachgewiesen haben, sind dabei hauptsächlich die Aminosäuren von Bedeutung. Nach diesen Autoren können 20 g Alanin oder Glykokoll vollständig in Zucker umgewandelt werden. Wie und wo diese Zuckerbildung geschieht, darüber sind die Akten noch nicht geschlossen. Nach neueren Untersuchungen scheint es sogar eher wahrscheinlich, daß die Aminosäuren durch Reizwirkung zu einer Zuckerausschüttung führen, vergleichbar dem Adrenalin, wobei sie selbst gar nicht oder nur teilweise zum Zuckeraufbau verwendet werden. Es konnte nämlich *Pollak* (1922) zeigen, daß bei Kaninchen nach subkutaner Injektion von 1 g Alanin, Glykokoll oder asparaginsaurem Natrium, in 20 ccm Wasser gelöst, jedesmal eine deutliche Steigerung des Blutzuckerspiegels eintrat, mit einem Maximum nach 2 bis 3 Stunden, die aber nach Lähmung des Sympathikus durch Ergotamin ausblieb. Diese experimentellen Tatsachen machen eine Reizwirkung ziemlich wahrscheinlich. *Pollak* schließt daneben eine Umwandlung von Aminosäure in Zucker nicht aus, sondern nimmt an, daß gewisse Derivate derselben für die Reizauslösung, andere für die Zuckersynthese in Betracht kommen.

Wie *peroral* zugeführte Aminosäuren auf Blut- und Harnzucker wirken, darüber scheinen bis jetzt keine Untersuchungen gemacht worden zu sein. Dagegen liegen eine Anzahl Experimente mit Eiweiß in Form von Fleisch, Casein usw. vor, so von *Jacobsen*, *Welz*, *Frank* und *Mehlhorn* u. a., mit dem Resultat, daß der Blutzucker nach Eiweißzufuhr unverändert bleibt. Im Gegensatz dazu fand *Moraczewski* nach Eiweiß und Gelatine eine beträchtliche Hyperglykämie.

**Eigene Versuche.**

Es wurden je zwei Versuche mit 20 g Glykokoll und 20 g Alanin gemacht (Tabelle XI, XII und XIII, XIV).

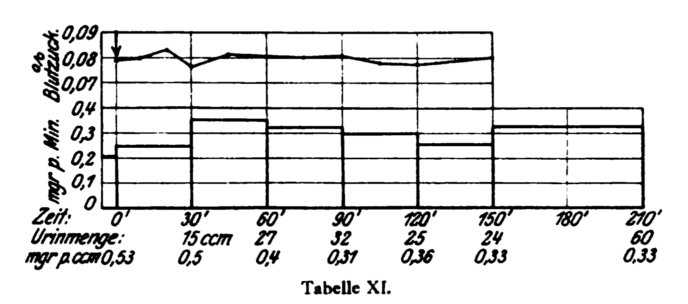



Tabelle XI.

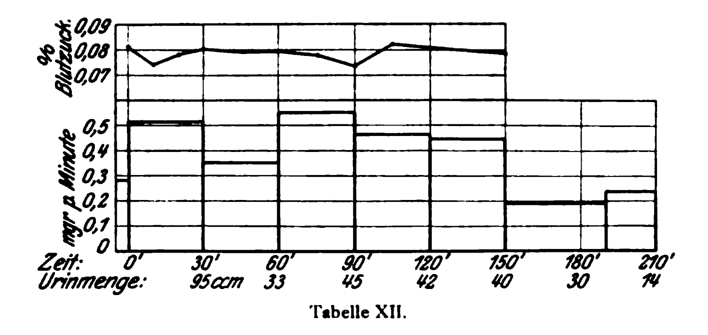



Tabelle XII.

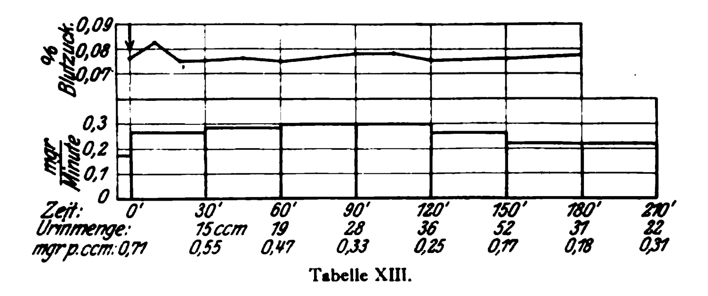



Tabelle XIII.

Blut- und Harnzuckerspiegel blieben unverändert, nur in einem Falle (Tab. XII) trat eine stärkere Harnzuckerausscheidung auf, die vielleicht auf die größere Lösungsmenge (180 ccm Wasser) zurückzuführen ist.

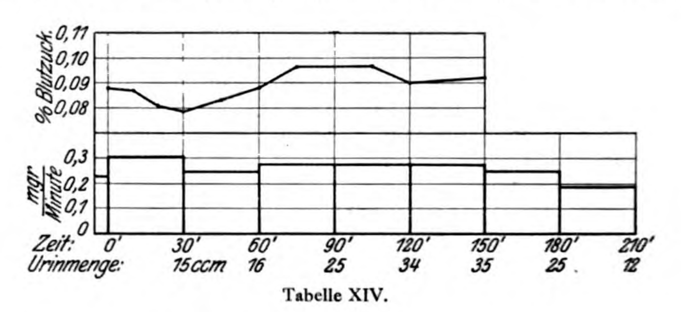



Tabelle XIV.

Warum die Wirkung bei den oben erwähnten subkutanen Injektionen an Kaninchen eine andere war, hängt vielleicht mit der Verschiedenheit der Versuchsobjekte zusammen, wahrscheinlich sind aber andere Momente ausschlaggebend.

## Zusammenfassung.

Aminosäuren und unzersetztes Eiweiß lassen bei peroraler Zufuhr den Blut- und Harnzucker unbeeinflußt. Nach subkutaner Injektion bei Kaninchen zeigt der Blutzucker hingegen eine Zunahme, die als Folge eines auf den Sympathikus ausgeübten Reizes aufgefaßt werden muß.

## E u. F. Pepton, Kaffee.

8 g Pepton in 80 ccm Wasser verändern den Blut- und Harnzuckergehalt nicht. Ebenso sind 250 ccm schwarzen Kaffees ohne Einfluß auf den Blutzucker (Tab. XV).

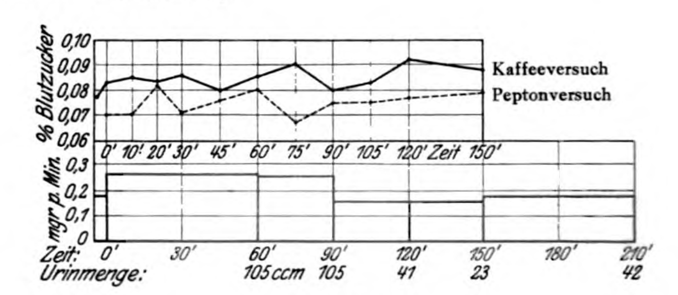



Tabelle XV.

## Ergebnisse der Blutzuckeruntersuchungen.

Es ist heute eine wohl allgemein anerkannte Tatsache, daß der Blutzucker durch Verabreichung von Glucose und anderen Kohlehydraten eine gesetzmäßige Zunahme erfährt, deren Beginn, Größe und Dauer abhängig ist:

1. von Menge und *Art* der zugeführten Stoffe. Mit zunehmender Kohlehydratzufuhr steigen Höhe und Dauer der alimentären Hyperglykämie, jedoch nicht proportional, sondern „es scheint das Integral der Blutzuckerkurve langsamer einem Maximum zuzustreben, als die zugeführten Zuckermengen“ (Tab. XVI);

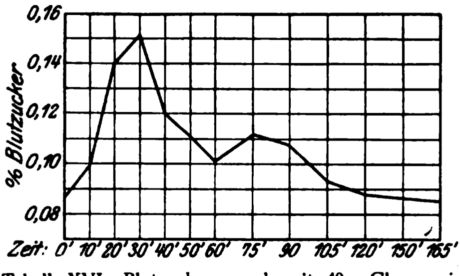


Tabelle XVI. Blutzuckerversuch mit 40 g Glucose in 100 ccm Wasser.

2. vom Zustand des Verdauungskanals bzw. von der Resorptionsgeschwindigkeit. Diese wird bekanntlich durch den Füllungszustand und die Motilität des Magens beeinflußt. Je rascher die Zuckerlösungen in den Dünndarm gelangen, desto schneller die Resorption und der Blutzuckeranstieg. Ferner spielen auch sekretorische Momente eine Rolle, besonders für die Aufnahme der Di- und Polysaccharide, deren Spaltung abhängig ist von der Azidität des Magens und von der Gegenwart spaltender Fermente;

3. von der Fähigkeit der Leber und Gewebe, Glykogen zu bilden. Der letztere Faktor ist, außer für die Höhe der Hyperglykämie besonders maßgebend für die Schnelligkeit, mit der der Blutzucker zur Norm zurückkehrt. Dies geschieht beim Gesunden sehr rasch, bei den oben dargestellten Versuchen stets nach 70 bis 80 Minuten, während beim Diabetiker und im Alter das Absinken zum Nüchternwert bedeutend mehr Zeit in Anspruch nimmt (*Löffler*, *Punschel*).

Wie *Staub* gezeigt hat, genügen schon 20 g Glucose, um eine deutliche Veränderung des Blutzuckerspiegels hervorzurufen.

Damit stimmen auch die Ergebnisse der eigenen Versuche mit 20 g verschiedener Kohlehydrate überein.

*Während Schnelligkeit des Anstieges und Dauer der Hyperglykämie ziemlich konstant sind, sinkt die Größe bei den verschiedenen Zuckern in folgender Reihenfolge:*

Glucose, Lävulose, Saccharose, Lactose, Galaktose, Stärke (nach Genuß großer Quantitäten verhält sich die Stärke anders).

Aminosäuren beeinflussen den Blutzucker überhaupt nicht. Man beachte, daß Glucose die größte Steigerung hervorruft. Offenbar gelangt von dieser sozusagen körpereigenen und von allen Zellen angreifbaren Substanz am meisten in den großen Kreislauf und verteilt sich dann auf die übrigen Gewebe, während die mehr körperfremde Galaktose, die wahrscheinlich nur von der Leber verarbeitet werden kann, zum größten Teil in derselben zurückgehalten, zum anderen Teil rasch ausgeschieden wird. Dazwischen reihen sich die anderen Zucker ein, wobei die Saccharose näher der Lävulose, die Lactose näher der Galaktose zu stehen kommt.

Aus diesen Untersuchungen geht aufs deutlichste hervor, in welch einer gesetzmäßigen Weise der Blutzucker auf die zugeführte Nahrung reagiert.

### Ergebnisse der Harnzuckeruntersuchungen.

Im normalen Urin sind bekanntlich immer Spuren von Zucker enthalten. Es beträgt die pro Tag ausgeschiedene Menge etwa 0,1 bis 0,25 g. Diese physiologische Zuckerausscheidung ist mit den gewöhnlichen Methoden

nicht nachweisbar und wird deshalb von den meisten Autoren ignoriert. Der Urin des Gesunden gilt *praktisch* als zuckerfrei (*v. Noorden*).

Wie sich die Kohlehydrat*ausscheidung* zur aufgenommenen Nahrung und damit zum Blutzucker verhält, ist ein viel diskutiertes aber noch ungelöstes Problem.

Ein Teil der Untersucher neigt der Ansicht zu, daß kein Zusammenhang bestehe zwischen Harn- und Blutzucker (*Folin* und *Berglund*, *Traugott*, *Eisner* und *Forster*). Sie stützten sich dabei unter anderem auf die Beobachtungen, daß nach Zufuhr großer Mengen Glucose oder Stärke eine Glykosurie vermißt werden kann, während sie nach Verabreichung kleiner Quantitäten bisweilen auftritt.

Andere Autoren fanden dagegen nach kohlehydratreichen Mahlzeiten eine doch recht deutliche Vermehrung des Harnzuckergehaltes (*Liefmann* und *Stern*, *Jacobsen* u. a.). Es besteht dabei die Vorstellung, daß die Niere nicht auf jede geringe Blutzuckersteigerung mit einer Ausscheidung von Glucose reagiert, sondern erst bei einer gewissen Höhe der Hyperglykämie (*Frank*). Der Punkt bei dem die Zuckerausscheidung beginnt, wird als Toleranzgrenze angenommen. Sie wird durch das Auftreten einer positiven Zuckerprobe manifest.

Es ist aber der qualitative Zuckernachweis in hohem Maße von der Diurese abhängig. Es muß deshalb nicht wundern, wenn bei großer Harnflut die Reaktion negativ ausfällt, besonderns wenn in großen Intervallen untersucht wird, während im konzentrierten Urin, auch nach kleinen Zuckerdosen, reduzierende Stoffe auftreten können.

Die Widersprüche in den Anschauungen sind ein Beweis für die Insuffizienz dieser Art der Harnzuckerbestimmung.

Unter Anwendung einer eigenen Methode gelang es jedoch *Wacker* (1914), nach Einnahme von 125 g Glucose eine deutliche Zunahme von Blut- und Harnzucker festzustellen. Gestützt auf seine Versuche, sprach er die Ansicht aus, daß die Durchlässigkeit der Nieren für Zucker nicht bei einem bestimmten Blutzuckergehalt einsetzte, sondern daß mit steigendem Blutzucker auch der Harnzucker zunehme.

Ebenso konnte *Nagaski* durch Vergärung des Harns mit einer besonderen Hefeart „Torula monosa", die nur Monosen angreift, den Beweis erbringen, daß durch Zufuhr von 25 und mehr Gramm Glucose eine deutliche Steigerung des Harnzuckergehaltes erzielt wird.

Aber erst *Benedict*, *Osterberg* und *Neuwirth* haben diese Fragen systematisch verfolgt und mit Hilfe ihrer Methode dargelegt, daß die in der Zeiteinheit ausgeschiedene Kohlehydratmenge nach Nahrungsaufnahme tatsächlich zunimmt. Dabei betonen diese Autoren, daß das Vorkommen einer Glykosurie nicht als ein plötzliches Auftreten von Zucker im Urin aufzufassen sei, sondern nur als eine Zunahme des sonst nur spurweise ausgeschiedenen Zuckers. Da der Ausdruck „Glykosurie" im allgemeinen aber ein Neuauftreten von Kohlehydrat bedeutet, setzen sie an dessen Stelle das Wort „Glucurese". Das will sagen: *konstantes Vorkommen von Zucker im Urin und Zunahme desselben nach Nahrungsaufnahme und anderen Einflüssen.*

Im Einklang mit dieser Anschauung stehen die Ergebnisse der eigenen Versuche. Aus den Harnzuckerkurven läßt sich folgendes ableiten:

1. *Der Harnzucker ist abhängig vom Blutzucker.* Wo die Blutzuckerwerte erhöht sind, steigt die Kohlehydratausscheidung entsprechend an.

Bleibt der Blutzuckerspiegel unverändert, z. B. nach Aminosäuren, weist auch die Glucurese nur unbedeutende Schwankungen auf.

2. *Der Harnzuckergehalt ist abhängig von der Art des zugeführten Kohlehydrates.* Die Niere reagiert unterschiedlich auf die verschiedenen Zucker. Am langsamsten wird die körpereigene Glucose ausgeschieden, am raschesten die für die Gewebe weniger leicht angreifbare Galaktose. Die Lävulose nimmt eine Mittelstellung ein.

3. *Der Harnzucker nimmt nach Einnahme von Kohlehydraten allmählich zu.* Nirgends ein plötzliches Ansteigen, auch dort nicht, wo der qualitative Nachweis gelingt, bei der Lävulose.

Wenn *Folin* und *Berglund* behaupten, daß die sogenannte Glucurese nicht auf Traubenzuckerausscheidung beruhe, sondern von unverdaulichen, körperfremden Kohlehydraten herrühre, welche in unserer vegetabilischen Nahrung enthalten seien und bei deren Zubereitung entstehen, so ist dagegen einzuwenden, daß die Gesetzmäßigkeit der Harnzuckerausscheidung, wie es die obigen Versuche zeigen, dadurch kaum erklärt werden könnte. Man

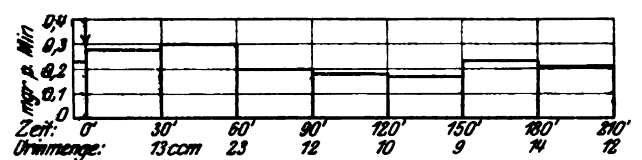


Tabelle XVII. Harnzuckerversuch mit 100 ccm Wasser.

müßte dann wohl erwarten, daß auch nach Stärke, Aminosäuren und Wasser (s. Tabelle XVII) eine Zunahme dieser Abbauprodukte zu beobachten wäre. Die Differenz der Resultate beruht wahrscheinlich zum Teil auf der verschiedenen Versuchsanordnung. Nach Genuß großer und in viel Wasser gelöster Kohlehydratmengen treten so starke osmotische Verschiebungen auf, daß die physiologischen Vorgänge jedenfalls weniger deutlich zu erkennen sind als nach Versuchen mit kleinen Mengen.

## Zusammenfassung.

1. Nach Verabfolgung von 20 g Kohlehydrat findet im allgemeinen eine deutliche Zunahme des Blutzuckers statt.

2. Die Größe der alimentären Hyperglykämie nimmt dabei für die verschiedenen Zucker in folgender Reihenfolge ab: Glucose, Lävulose, Saccharose, Lactose, Galaktose.

3. 20 g Stärke rufen bei der Versuchsperson keine eigentliche Hyperglykämie hervor.

4. Alanin und Glykokoll verändern nach peroraler Zufuhr den Blutzuckerspiegel nicht.

5. Der Harnzuckergehalt ist abhängig von der Art der aufgenommenen Nahrung.

6. Die Traubenzuckerausscheidung nimmt zu mit steigender Hyperglykämie, doch nicht parallel, sondern zeitlich verschoben.

7. Die Glucurese scheint ein sekretorischer Vorgang zu sein.

**Literatur.**

*Arnoldi* und *Ettinger*, Klin. Wochenschr. 1922, Heft 42, S. 2082. — *Aschenheim*, Monatsschr. f. Kinderheilk. **22**, 1921. — *Ivar Bang*, Die Mikromethoden. — *Derselbe*, Über die Mikrobestimmung des Blutzuckers. Diese Zeitschr. **87**, 248, 1918. — *H. Barrenscheen*, ebendaselbst **127**, 221, 1922. — *Baudouin*, Thèse de Paris, 1908. — *Bauer*, Deutsch. med. Wochenschr. 1908, S. 1505. — *St. R. Benedict* and *E. Osterberg*, Journ. of biol. Chem. **34**, 195, 1918; **48**, 51, 1921. — *Benedict*, *Osterberg* and *Neuwirth*, ebendaselbst **34**, 217, 1918. — *Bergmark*, Jahrb. f. Kinderheilk. **80**, 373, 1914. — *Bönninger*, Deutsch. med. Wochenschr. 1908, S. 780. — *Bürger*, diese Zeitschr. **124**, 1, 1921. — *Carnot*, *Rathery* et *Gérard*, C. r. **84**, 486, 1921. — *Dietrich*, Klin. Wochenschr. 1922, S. 1403. — *R. Ege*, diese Zeitschr. **111**, 189, 1920; **107**, 229, 1920. — *G. Eisner* und *O. Forster*, Berlin. klin. Wochenschr. 1921, S. 893. — *W. Eliassow*, Zeitschr. f. klin. Med. **95**, 384, 1922. — *Folin* and *Berglund*, Journ. of biol. Chem. **51**, 213, 1922. — *A. Frank* und *L. Mehlhorn*, Jahrb. f. Kinderheilk. **91**, 313, 1920. — *Frank* und *Nothmann*, Münch. med. Wochenschr. 1920, S. 1433. — *Frank*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **70**, 129, 291, 1910. — *Gottschalk* und *Strecker*, Klin. Wochenschr. 1923, S. 2476. — *G. Graham*, Lancet. **200**, 951, 1921. — *Hamburger* und *Brinkmann*, diese Zeitschr. **94**, 131, 1919. — *E. Hirsch*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **98**, 355, 1915. — *Hoffmann*, Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther. **16**, 337, 1914. — *Holst*, Zeitschr. f. klin. Med. **95**, 394, 1922. — *A. Th. B. Jacobsen*, diese Zeitschr. **56**, 471, 1913. — *Isaac*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 78, 1914; Med. Klin. **16**, 1207, 1920. — *Isaac* und *Adler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **115/116**, 105, 1921. — *Kahler* und *Machold*, Wien. klin. Wochenschr. 1922, S. 414; zit. nach Ber. a. d. Gesamtgebiet d. Physiol. — *Kausch* und *Socin*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **31**, 1893; zit. nach *Reiss* und *Jehn*. — *Labbé* et *Nepveux*, C. r. des séances de la soc. de biol. **85**, 397, 1921. — *Liefmann* und *Stern*, diese Zeitschr. **1**, 299, 1906. — *W. Löffler*, ebendaselbst **127**, 316, 1922. — *Maclean* and *de Wesselow*, Quart. journ. of med. **14**, 103, 1921. — *Moraczewski*, diese Zeitschr. **71**, 268, 1915. — *Nagaski*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **95**, 61, 1915. — *J. Neuwirth*, Journ. of biol. Chem. **51**, 11, 1922. — *v. Noorden*, Die Zuckerkrankheit und ihre Behandlung. VII. Aufl. 1917. — *A. Norgaard*, diese Zeitschr. **180**, 304, 1922. — *Offenbacher* und *Hahn*, Arch. f. Verdauungskrankh. **29**, 193, 1922. — *Fr. Oppermann*, Inaug.-Dissertation Leipzig 1913. — *Petényi* und *Lax*, diese Zeitschr. **125**, 272, 1921. — *Pollak*, ebendaselbst **127**, 120, 1922. — *Polonowsky* et *Duhot*, C. r. des séances de la soc. de biol. **85**, 501, 1921. — *A. Punschel*, Zeitschr. f. klin. Med. **96**, 1923. — *Reiss* und *Jehn*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **108**, 187, 1912. — *Ringer* und *Lusk*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **66**, 106, 1910. — *Röhmann* und *Nagano*, Pflügers Arch. **95**, 1903. — *Roubitschek*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **108**, 225, 1912; Med. Klin. 1912, S. 948. — *Sachs*, Inaug.-Dissertation Leipzig 1900. — *Schirokauer*, Zeitschr. f. klin. Med. **78**, 462, 1913. — *O. Schwarz*, Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther. **16**, 264, 1914. — *Staub*, Zeitschr. f. klin. Med. **91**, 44, 1921; diese Zeitschr. **118**, 93, 1921. — *Strauss*, Berlin. klin. Wochenschr. **35**, 398, 1898; Deutsch. med. Wochenschr. 1901, S. 757. — *S. Strouse*, Arch. of internal. med. **26**, 751, 759, 1920. — *Tannhauser* u. *Pfitzer*, Münchn. med. Wochenschr. 1913, S. 2155. — *Traugott*, Klin. Wochenschr. 1922, S. 893, 2384. — *Wacker*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**, 197, 1910. — *Welz*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **73**, 159, 1913. — *Worm-Müller*, Pflügers Arch. **34**, 576, 1884. — *Wörner* u. *Reiss*, Deutsch. med. Wochenschr. 1914, S. 907. — *Wörner*, Klin. Wochenschr. 1923, S. 208.

# Über eine Methylierungsfunktion der Schilddrüse, zugleich ein Beitrag zur biologischen Bedeutung des Jods.

Von

**B. Stuber, A. Russman und E. A. Proebsting.**

(Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik zu Freiburg im Breisgau.)

*(Eingegangen am 30. September 1923.)*

Mit 2 Abbildungen im Text.

Während wir über die physiologischen Wirkungen der Schilddrüsenstoffe im allgemeinen bezüglich ihres Endergebnisses gut unterrichtet sind, begegnen Versuche, diese Wirkungen in ihrem stufenweisen Ablaufe zu erklären, den allergrößten Schwierigkeiten. Wir wissen, daß die Schilddrüsenstoffe sehr energisch auf den gesamten Stoffwechsel einwirken, eine Beeinflussung, die so konstant ist, daß sie direkt als Kriterium für die Schilddrüsensubstanz erachtet wird. Wir haben die Einwirkung dieser Stoffe auf den Zirkulationsapparat, das Nervensystem, auf die Gerinnungsfähigkeit des Blutes und dessen Zusammensetzung, und ihre Wirkung auf das Knochenwachstum bei jugendlichen Individuen kennen gelernt. Wir kennen dementsprechend auch klinisch sehr gut die Bilder diesseits und jenseits der normal funktionierenden Drüse mit den beiden Endtypen der Hyper- und Afunktion und den dazwischen liegenden Abstufungen.

Versuchen wir aber, diese durch die Schilddrüsenstoffe in typischer Weise hervorgerufenen Alterationen vitaler Prozesse in ihrem *Reaktionsablauf* näher zu erfassen, oder gar, um nur die Stoffwechselwirkung herauszuheben, *einen speziellen Typus des intermediären Geschehens einer physiologisch-chemischen Präzisierung* zuzuführen, so müssen wir gestehen, darüber wissen wir nichts Näheres. So kommt es auch, daß der Streit über die Theorie der Schilddrüsenfunktion, ob die Drüse sezernierendes oder entgiftendes Organ, noch nicht beigelegt ist.

Diese Frage soll uns in dieser Arbeit nicht beschäftigen, wohl aber hoffen wir, den Beweis für eine *bisher nicht bekannte* Funktion der Schilddrüse zu erbringen, die uns deshalb bemerkenswert erscheint, weil sie zum erstenmal eine wohl charakterisierte chemische Reaktion als Ausdruck einer intermediären Stoffwechselbeeinflussung der Schilddrüse aufdeckt.

*Tabelle VII.* (Fortsetzung.)

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blut-gesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| 4 1/2 Std. später Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten | 1,950 | 6,640 | 4,690 |
| 15 „ | 1,750 | 6,60 | 4,85 |
| 30 „ | 1,620 | 6,288 | 4,66 |
| 60 „ | 1,510 | 6,09 | 4,58 |

*Tabelle VIII.*

Kaninchen F, männlich, Gewicht 2300 g.

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blut-gesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* Am 1. III. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten | 1,72 | 6,56 | 4,84 |
| 15 „ | 1,67 | 6,39 | 4,72 |
| 30 „ | 1,50 | 6,11 | 4,61 |
| 60 „ | 1,51 | 6,00 | 4,49 |
| Am 4. III. 1923. Thyreoidektomie. | | | |
| *Versuch 2.* Am 6. III. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Nach der Injektion: | | | |
| 5 Minuten | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 15 „ | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 30 „ | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 60 „ | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Am 3. V. 1923 werden um 7 Uhr abends 23 ccm Serum eines gesunden Menschen mit Schlundsonde verabreicht. | | | |
| *Versuch 3.* Am 4. V. 1923. | | | |
| Vor der Injektion 10h 30′ vorm. | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure 10h 55′: | | | |
| 5 Minuten | 1,55 | 6,09 | 4,54 |
| 15 „ | 1,51 | 5,81 | 4,30 |
| 30 „ | 1,45 | 5,72 | 4,72 |
| 60 „ | 1,45 | 5,72 | 4,72 |

Am 4. V. 1923 werden um 7 Uhr abends 24 ccm Serum von einem thyreoidektomierten Kaninchen gefüttert.

*Tabelle VIII.* (Fortsetzung.)

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blut-gesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| *Versuch 4.* Am 5. V. 1923. | | | |
| Vor der Injektion 10h vorm. . . | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure 10h 15': | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . . | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| 15 „ . . . . . . . . . | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| 30 „ . . . . . . . . . | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| 60 „ . . . . . . . . . | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| Am 15. V. 1923 werden um 7 Uhr abends 40 ccm Serum eines jodüberempfindlichen Hautkranken[1]) per os gegeben. | | | |
| *Versuch 5.* Am 16. V. 1923. | | | |
| Vor der Injektion . . . . . . . | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . . | 1,50 | 5,72 | 4,22 |
| 15 „ . . . . . . . . . | 1,50 | 5,72 | 4,22 |
| 30 „ . . . . . . . . . | 1,50 | 5,72 | 4,22 |
| 60 „ . . . . . . . . . | 1,50 | 5,72 | 4,22 |

*Tabelle IX.*

Kaninchen G, weiblich, Gewicht 2530 g.

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blut-gesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* Am 11. VI. 1923. | | | |
| Vor der Injektion . . . . . . . | 1,50 | 6,09 | 4,59 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . . | 1,75 | 6,56 | 4,81 |
| 30 „ . . . . . . . . . | 1,60 | 6,28 | 4,68 |
| Am 13. VI. 1923. Thyreoidektomie. | | | |
| *Versuch 2.* Am 16. VI. 1923. | | | |
| Vor der Injektion . . . . . . . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 30 „ . . . . . . . . . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| *Versuch 3.* Am 6. VIII. 1923. | | | |
| Nüchtern . . . . . . . . . . . . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Um 11 Uhr vormittags werden 30 ccm Blut eines normalen Kaninchens mit der Schlundsonde verabreicht. | | | |

[1]) Das Blut stammte von einem Patienten der dermatologischen Klinik. Wenige Stunden nach Jodzufuhr trat bei demselben ein ausgedehnter Nachschub einer zurzeit erscheinungsfreien Dermatitis (Dermatitis herpetiformis Duhring) auf. Für die Überlassung des Falles sind wir Herrn Professor *Rost*, der über denselben noch an anderer Stelle berichten wird, zu Dank verpflichtet.

Bei der experimentellen Feststellung der Wirkungsweise der Schilddrüsensubstanz auf den Stoffwechsel ging man seither meist so vor, daß man Abweichungen von der Norm nach Entfernung des Organs festzustellen suchte, oder aber, daß man am intakten Tiere Schilddrüsensubstanz bzw. Extrakte daraus verfütterte und die dadurch bedingten Änderungen des physiologischen Geschehens feststellte, allerdings unter der stillen Voraussetzung, daß eine Fütterung mit Schilddrüsensubstanz am normalen Tiere in ihrer Wirkung einer Hypersekretion der Drüse gleichgesetzt werden könne.

War man früher unter dem Einfluß der Untersuchungen von *Baumann* und *Roos*, ferner von *Oswald*, geneigt, in dem spezifischen jodhaltigen Eiweißkörper der Schilddrüse, dem Jodothyrin bzw. Thyreoglobulin, das eigentliche Schilddrüsensekret zu erblicken, so haben neuere Untersuchungen von *Abderhalden*, *Kahn* und *Abelin* dargetan, daß auch *eiweißfreie* Drüsenextrakte die gleichen biologischen Wirkungen entfalten, wie die Drüse selbst. Wohl aber stimmen fast alle Autoren darin überein, daß das *Jod* als ein integrierender Bestandteil eines vollwertigen Schilddrüsenpräparates zu betrachten sei, wobei aber nach *Abelin* die Menge des Jods in den weitesten Grenzen schwanken kann. Speziell in der Entgiftungstheorie von *Blum* wird dem Jod eine zentrale Stellung zugewiesen unter der Vorstellung, daß der Schilddrüse die Aufgabe zufalle, im Stoffwechsel entstehende giftige Eiweißprodukte durch Jodieren unschädlich zu machen. In welcher Weise aber *chemisch* sich dieser Vorgang abspielen sollte, darüber liegen sichere experimentelle Daten nicht vor.

Die *Bedeutung des Jods* ist so unzweifelhaft sowohl durch experimentelle, als auch klinische Erfahrungen erwiesen, der *Mechanismus seiner Wirkungsweise* ist aber noch unerklärt.

Wir suchten uns nun zunächst eine eigene Vorstellung von der Wirkung des Jods in der Schilddrüse zu machen. Dabei leitete uns folgende Überlegung: Die organische Chemie benutzt zur Substitution am Kern, als auch an Seitenketten, mit Vorliebe die Halogene. So ist jedem organischen Chemiker die Alkylierung mit Jod eine geläufige Methode. Daß der tierische Organismus in ähnlicher Weise arbeite, hielten wir durchaus für wahrscheinlich. Zur experimentellen Prüfung dieser Frage, der Substitution durch Jod, erschien uns die *Methylierung*, die ja auch im Laboratorium häufig mittels Jodmethyl ausgeführt wird, am geeignetsten. Daß dem tierischen Organismus die Fähigkeit der Methylierung zukommt, ist bekannt. Das Vorkommen methylierter Stoffwechselprodukte, wie des Kreatins, das Auftreten von Methylpurinen im Urin normalerweise sprachen ohne weiteres in diesem Sinne. Außerdem wissen wir aber auch, daß der tierische Organismus bestimmte, von außen eingeführte Stoffe methylieren und als Methylverbindungen

ausscheiden kann. Diese Methylierung konnte von *His* für das Pyridin, von *Czapek* für das Selen, von *Hofmeister* für das Tellur, von *Jaffé* für die Guanidinessigsäure, von *Neuberg* und *Grosser* für das Diäthylsulfid nachgewiesen werden.

Wir prüften zunächst, ob eine Abhängigkeit dieser Fähigkeit zur Methylierung von der Tätigkeit der Schilddrüse nachweisbar ist. Als Substanz, deren Methylierung geprüft werden sollte, benutzten wir die Guanidinessigsäure. Dieselbe wird nach den Untersuchungen von *Jaffé* und *Dorner* im tierischen Organismus teilweise methyliert, d. h. in Kreatin umgewandelt. Für die Wahl dieser Substanz sprach vor allem, daß wir durch die *Folin*sche Methode der Kreatin-Kreatininbestimmung die Möglichkeit haben, das Kreatin-Kreatinin in fortlaufenden Untersuchungen in kleinen Blutmengen exakt nachzuweisen.

Die Kreatin-Kreatininbestimmungen im Blute nach der *Folin*schen Methode wurden genau nach den von *Mandel* und *Steudel* in ihren minimetrischen Blutuntersuchungsmethoden angegebenen Vorschriften ausgeführt. Zur Kreatininbestimmung im Urin benutzten wir die Methode von *Autenrieth*. Als Kolorimeter diente der Apparat von *Autenrieth* und *Königsberger*. Auf Reinheit der Reagenzien wurde im Sinne *Feigls* speziell geachtet. Die Ablesung erfolgte immer von mehreren Beobachtern. Nach einiger Übung waren die diesbezüglichen Differenzen minimal. Die Tabellenwerte entsprechen Mittelwerten. Die Guanidinessigsäure (*Merck*) wurde intravenös gegeben. Wegen ihrer schweren Löslichkeit konnten nur kleine Mengen, 0,1 bis 0,2 g, injiziert werden. Geprüft wurde sowohl vor als nach Entfernung der Schilddrüse, ferner wurde bei den schilddrüsenlosen Tieren der Einfluß der Schilddrüsen- und Jodfütterung festgestellt. Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Das Nähere kann aus den Tabellen entnommen werden. Im folgenden berichten wir nun über unsere Versuche.

*Tabelle I.*
Normal-Blut-Kreatin-Kreatininwerte.

| | Präformiertes Kreatinin mg | Gesamtkreatinin mg | Kreatin mg |
|---|---|---|---|
| Kaninchen A . . | 1,52 | 6,36 | 4,84 |
| | 1,51 | 6,27 | 4,76 |
| | 1,52 | 6,10 | 4,58 |
| „ B . . | 1,51 | 6,235 | 4,72 |
| „ C . . | 1,606 | 6,117 | 4,511 |
| | 1,515 | 6,090 | 4,575 |
| Im Mittel . . | 1,53 | 6,195 | 4,664 |

Die Tabelle I ergibt die Normalwerte des präformierten Kreatinins, des Gesamtkreatinins und des Kreatins im Blute von Kaninchen. Wir

wollen noch betonen, daß die Tiere bei konstantem Futter, das aus 500 g Dickwurz und 50 g Heu täglich bestand, gehalten wurden. Die Blutuntersuchungen wurden immer vor der Fütterung nüchtern vorgenommen. Die Normalblutwerte betrugen im Mittel für präformiertes Kreatinin 1,53 mg, für Gesamtkreatinin 6,195 mg, für Kreatin 4,664 mg in 100 ccm Blut.

*Tabelle II.*

Urinkreatininwerte zu Kaninchen A.

| Datum | In 24 Std. pro kg Tier mg | Bemerkungen |
|---|---|---|
| 20. I. | 70,3 | Injektion von Guanidinessigsäure nach vorhergehender Thyreoideafütterung. |
| 21. I. | 97,9 | |
| 22. I. | 79,5 | |
| 23. I. | 69,5 | |
| 26. I. | 57,2 | Fütterung m. Thyreoideatabletten. |
| 27. I. | 93,7 | Fütterung m. Thyreoideatabletten. |
| 28. I. | 90,3 | Fütterung m. Thyreoideatabletten. |
| 29. I. | 87,9 | Injektion von Guanidinessigsäure. |
| 30. I. | 90,7 | |
| 31. I. | 55,5 | |
| 1. II. | 57,0 | |
| 2. II. | 103,7 | |
| 3. II. | 77,2 | |
| 4. II. | 69,5 | |
| 5. II. | 69,5 | |
| 6. II. | 76,4 | |
| 7. II. | 75,2 | |
| 8. II. | 68,06 | |
| 9. II. | 64,8 | |
| 14. II. | 64,4 | |
| 15. II. | 90,0 | |
| 16. II. | 41,0 | |
| 17. II. | 69,05 | |
| 18. II. | 74,25 | |
| 19. II. | 74,25 | Injektion von Guanidinessigsäure nach Jodfütterung. |
| 20. II. | 86,1 | |

In Tabelle II geben wir aus unseren fortlaufenden Urinuntersuchungen ein Beispiel wieder, das über die in 24 Stunden ausgeschiedene Menge von Kreatinin im Urin pro Kilogramm Tier orientiert. Die beträchtlich schwankenden Werte sind teils durch experimentelle Eingriffe bedingt, vielfach zeigen sie sich aber auch ohne näher zu bestimmenden Grund. Bei der Abhängigkeit der Kreatin-Kreatininausscheidung im Urin von dem Muskelstoffwechsel war von vornherein an eine gleichmäßige Ausfuhr nicht zu denken. Es konnte deshalb auch nicht damit gerechnet werden, daß bei den normalerweise vorhandenen Differenzen in der Urinausscheidung die kleinen Mengen zugeführter Guanidinessigsäure eine wesentliche Ausfuhrsteigerung hervorrufen würden. Die Werte für präformiertes und Gesamtkreatinin fallen im Urin bekanntermaßen nahezu zusammen. Das war auch in unseren sämtlichen Versuchen der Fall, so daß auf die letzteren verzichtet werden konnte. Die Zahlen beziehen sich dementsprechend auf präformiertes Kreatinin.

In Tabelle III finden sich Versuche mit intravenöser Injektion von 0,1 g Guanidinessigsäure. Die Methylierung verläuft danach äußerst rasch. Eine Beobachtung, die auch von *Hofmeister* bei der Bildung des Tellurmethyls gemacht wurde. Wir finden in allen Versuchen den Höchstwert der Steigerung des Blutkreatinin-Kreatinspiegels schon 5 Minuten nach der Injektion der Guanidinessigsäure und ein allmähliches Abklingen zur Norm innerhalb einer Stunde. Öfters zeigt sich sogar, daß dabei die Werte etwas unter den Ausgangswert kurz herabsinken. Die Steigerung des Blutkreatin-Kreatinins durch die Methylierung der injizierten Guanidinessigsäure schwankt in unseren Versuchen für das präformierte Kreatinin

*Tabelle III.*

Versuche mit Injektion von 0,1 g Guanidinessigsäure intravenös.

| | Präformiertes Kreatinin im Blut mg | Gesamtkreatinin im Blut mg | Kreatin im Blut mg | Urinkreatinin in 24 Stunden, Menge in mg pro kg Tier |
|---|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* Kaninchen B, männlich, Gewicht 2038 g. | | | | |
| Vor der Injektion . . . . . . . | 1,519 | 6,216 | 4,697 | — |
| 5 Minuten nach der Injektion . | 1,665 | 6,336 | 4,671 | — |
| 15 „ „ „ „ . | 1,626 | 6,198 | 4,572 | — |
| 30 „ „ „ „ . | 1,540 | 6,090 | 4,550 | — |
| 60 „ „ „ „ . | 1,519 | 5,958 | 4,439 | 50,7 |
| *Versuch 2.* Kaninchen C, weiblich, Gewicht 1930 g. | | | | |
| Vor der Injektion . . . . . . . | 1,515 | 6,09 | 4,575 | — |
| 5 Minuten nach der Injektion . | 1,750 | 6,393 | 4,643 | — |
| 15 „ „ „ „ . | 1,698 | 6,090 | 4,392 | — |
| 40 „ „ „ „ . | 1,620 | 5,778 | 4,158 | — |
| 60 „ „ „ „ . | 1,541 | 5,493 | 3,952 | — |
| 90 „ „ „ „ . | 1,520 | 5,342 | 3,822 | 65,0 |

zwischen 10 und 24 Proz., weniger für das Gesamtkreatinin (2 bis 20 Proz.) und Kreatin (0 bis 15 Proz.). Sie ist speziell für das präformierte Kreatinin sehr ausgesprochen. Auch im Urin findet sich (s. Tabelle II) anschließend an die Guanidinessigsäureinjektion deutliche Ausfuhrzunahme des Kreatinins, wenn auch aus den oben erwähnten Gründen in nicht so typischer Weise wie im Blute.

*Tabelle IV.*

Versuche mit Guanidinessigsäure vor und nach Schilddrüsenexstirpation.
Kaninchen D, männlich, Gewicht 2160 g.

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blutgesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg | Urinkreatinin in 24 Stunden, Menge in mg pro kg Tier |
|---|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* Am 24. I. 1923. | | | | |
| Vor der Injektion . . . . | 1,540 | 6,090 | 4,550 | 62,5 am 25. I. |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . | 1,920 | 6,720 | 4,800 | 101,8 „ 26. I. |
| 15 „ . . . . . . . . | 1,815 | 6,440 | 4,625 | 74,9 „ 27. I. |
| 30 „ . . . . . . . . | 1,755 | 6,288 | 4,553 | 75,9 „ 28. I. |
| 60 „ . . . . . . . . | 1,620 | 6,190 | 4,570 | 86,1 „ 29. I. |
| 2 Stunden . . . . . . . . | 1,540 | 6,000 | 4,460 | |
| Am 2. II. 1923. Thyreoidektomie. | | | | |
| *Versuch 2.* Am 3. II. 1923. | | | | |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . | 1,540 | 6,090 | 4,550 | |
| 15 „ . . . . . . . . | 1,540 | 6,190 | 4,650 | |
| 30 „ . . . . . . . . | 1,540 | 6,090 | 4,550 | |
| 60 „ . . . . . . . . | 1,540 | 6,090 | 4,550 | |
| 3 Stunden . . . . . . . . | 1,540 | 6,090 | 4,550 | |
| 8 „ . . . . . . . . | 1,540 | 6,090 | 4,550 | |

Tabelle IV zeigt nun den Einfluß der Schilddrüsenexstirpation auf die Methylierung der Guanidinessigsäure. Während im ersten Versuche vor der Operation die Methylierung in besonders deutlicher Weise in Erscheinung tritt, ist nach der Thyreoidektomie diese Fähigkeit vollkommen verloren. Der Blutkreatin-Kreatininspiegel bleibt am schilddrüsenlosen Tiere nach Injektion der Guanidinessigsäure völlig unverändert.

*Tabelle V.*

Kaninchen E, männlich, Gewicht 2270 g.

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blut-gesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* Am 1. 3. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,51 | 6,09 | 4,580 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten | 1,725 | 6,564 | 4,839 |
| 15 „ | 1,678 | 6,390 | 4,712 |
| 30 „ | 1,563 | 6,144 | 4,581 |
| 60 „ | 1,510 | 6,000 | 4,490 |
| Am 5. III. 1923. Thyreoidektomie. | | | |
| *Versuch 2.* | | | |
| Vor der Injektion | 1,51 | 6,09 | 4,580 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten | 1,50 | 6,09 | 4,59 |
| 15 „ | 1,50 | 6,09 | 4,59 |
| 30 „ | 1,50 | 6,09 | 4,59 |
| 60 „ | 1,50 | 6,09 | 4,59 |
| Am 7. III. 1923. 10 ccm 5 proz. Jodkalilösung per os. | | | |
| *Versuch 3.* 8. III. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,510 | 6,09 | 4,580 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten | 1,815 | 6,840 | 5,025 |
| 15 „ | 1,725 | 6,499 | 4,774 |
| 30 „ | 1,620 | 6,190 | 4,570 |
| 60 „ | 1,510 | 6,09 | 4,580 |

Dasselbe Ergebnis zeigt Tabelle V. Vor der Operation ausgesprochene Methylierung der zugeführten Guanidinessigsäure, nach der Thyreoidektomie völliges Unvermögen zu methylieren. Interessanterweise ergibt aber dieser Versuch weiterhin, daß durch Zufuhr von Jod in anorganischer Form am schilddrüsenlosen Tiere die Fähigkeit zur Methylierung wieder hergestellt werden kann.

*Tabelle VI.* Versuche vor und nach Exstirpation der Schilddrüse.
Kaninchen A, männlich, Gewicht 1910 g.

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blut-gesamt-kreatinin mg | Blut-kreatin mg | Urinkreatinin in 24 Stunden, Menge in mg pro kg Tier |
|---|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* | | | | |
| Vor der Injektion . . . . . . | 1,51 | 6,138 | 4,628 | 40,5 |
| Nach der Injektion von 0,1 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . | 1,72 | 6,499 | 4,779 | — |
| 10 „ . . . . . . . . | 1,68 | 6,090 | 4,410 | — |
| 30 „ . . . . . . . . | 1,62 | 5,910 | 4,290 | — |
| 60 „ . . . . . . . . | 1,52 | 5,570 | 4,050 | 65,5 |
| Exstirpation der Schilddrüse am 14. XII. 1922. | | | | |
| *Versuch 2.* Am 15. XII. 1922. | | | | |
| Nach der Injektion von 0,16 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . | 1,557 | 5,800 | 4,243 | — |
| 15 „ . . . . . . . . | 1,550 | 5,800 | 4,250 | — |
| 30 „ . . . . . . . . | 1,550 | 5,800 | 4,250 | — |
| 60 „ . . . . . . . . | 1,557 | 5,800 | 4,243 | 35,5 nach der Operation |
| *Versuch 3.* Am 18. XII. 1922. | | | | |
| Vor der Injektion . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| Nach der Injektion von 0,16 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 10 „ . . . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 25 „ . . . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 55 „ . . . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | 34,2 18./19. |
| | | | | 20,86 19./20. |
| | | | | 20,35 20./21. |
| 11. I. 1923 . . . . . . . . . . | 1,59 | 6,09 | 4,50 | 58,5 11./12. I. 1923 |
| *Versuch 4.* Am 16. I. 1923. | | | | |
| Vor der Injektion . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| Nach der Injektion von 0,16 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 15 „ . . . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 30 „ . . . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 60 „ . . . . . . . . | 1,54 | 6,09 | 4,55 | 46,6 16./17. I. 1923 |
| | | | | 38,8 17./18. I. 1923 |

Fütterung des thyreoidektomierten Tieres mit Thyreoid. sicc.-Tabletten. *(Merck)* à 0,3 g.

17. I. 1923 eine Tablette Thyreoid. sicc. à 0,3 g.
18. I. zwei Tabletten „ „ à 0,3 g.
19. I. drei „ „ „ à 0,3 g.

*Tabelle VI.* (Fortsetzung.)

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blutgesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg | Urinkreatinin in 24 Stunden, Menge in mg pro kg Tier |
|---|---|---|---|---|
| *Versuch 5.* Am 20. I. 1923. | | | | |
| Vor der Injektion | 1,590 | 6,09 | 4,500 | — |
| Nach der Injektion von 0,16 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten | 1,731 | 6,499 | 4,764 | — |
| 15 „ | 1,666 | 6,300 | 4,634 | — |
| 30 „ | 1,606 | 5,910 | 4,304 | — |
| 60 „ | 1,540 | 5,570 | 4,030 | — |
| *Versuch 6.* Am 25. I. 1923. | | | | |
| Vor der Injektion | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| Nach der Injektion von 0,20 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 15 „ | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 30 „ | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| 60 „ | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| Fütterung mit Thyreoid. sicc.-Tabletten (Chemische Werke Grenzach). Eine Tablette = 0,1 g frische Drüse. 26. I. 1923 zwei Tabletten, 27. I. 1923 drei Tabletten, 28. I. 1923 vier Tabletten. | | | | |
| *Versuch 7.* Am 29. I. 1923. | | | | |
| Vor der Injektion | 1,54 | 6,090 | 4,55 | — |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten | 1,920 | 6,720 | 4,800 | — |
| 15 „ | 1,815 | 6,393 | 4,578 | — |
| 30 „ | 1,720 | 6,091 | 4,371 | — |
| 60 „ | 1,606 | 6,000 | 4,394 | — |
| 2 Stunden | 1,540 | 6,000 | 4,460 | — |
| Fütterung mit 5 proz. Jodkalilösung. 7. II. 1923 10 ccm, 8. II. 1923 20 ccm, 9. II. 1923 20 ccm, 10. II. 1923 10 ccm, 11. II. 1923 15 ccm. | | | | |
| *Versuch 8.* Am 12. II. 1923. | | | | |
| Vor der Injektion | 1,54 | 6,00 | 4,46 | — |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten | 1,731 | 6,840 | 5,109 | — |
| 15 „ | 1,660 | 6,393 | 4,733 | — |
| 30 „ | 1,600 | 6,190 | 4,590 | — |
| 60 „ | 1,540 | 6,000 | 4,460 | — |
| 6 Stunden | 1,540 | 6,000 | 4,460 | — |
| Fütterung mit 5 proz. Jodkalilösung. Am 16., 17. und 18. II. 1923 je 10 ccm. | | | | |
| *Versuch 9.* Am 19. II. 1923. | | | | |
| Vor der Injektion | 1,54 | 6,09 | 4,55 | — |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure intravenös: | | | | |
| 5 Minuten | 1,810 | 6,7-0 | 4,910 | — |
| 15 „ | 1,730 | 6,393 | 4,663 | — |
| 30 „ | 1,606 | 6,090 | 4,484 | — |
| 60 „ | 1,540 | 6,000 | 4,460 | — |
| 24 Stunden | 1,540 | 6,000 | 4,460 | — |

Die Tabelle VI gibt eine ausführliche Versuchsreihe wieder, in der die seitherigen Ergebnisse nochmals ihre Bestätigung finden, außerdem aber zeigt sich (Versuch 5, 6 und 7 der Tabelle), daß auch durch Zufuhr von Schilddrüsensubstanz, genau wie durch Jodfütterung, dem schilddrüsenlosen Tiere das Methylierungsvermögen voll und ganz wiedergegeben werden kann.

*Tabelle VII.*

Kaninchen J, männlich, Gewicht 2255 g.

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blutgesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* Am 1. III. 1923. | | | |
| Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten | 1,725 | 6,564 | 4,839 |
| 15 „ | 1,678 | 6,390 | 4,712 |
| 30 „ | 1,563 | 6,144 | 4,581 |
| 60 „ | 1,510 | 6,000 | 4,490 |
| Am 5. III. 1923. Thyreoidektomie. | | | |
| Am 6. III. 1923 Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten | 1,51 | 6,00 | 4,49 |
| 15 „ | 1,51 | 6,00 | 4,49 |
| 30 „ | 1,51 | 6,00 | 4,49 |
| 60 „ | 1,51 | 6,00 | 4,49 |
| Am 7. III. 1923. Abends durch Schlundsonde 10 ccm 5 proz. Jodkaliumlösung. | | | |
| Am 8. III. 1923 morgens Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten | 1,815 | 6,840 | 5,025 |
| 15 „ | 1,725 | 6,499 | 4,774 |
| 30 „ | 1,620 | 6,190 | 4,570 |
| 60 „ | 1,510 | 6,09 | 4,580 |
| Am 11. IV. 1923 Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten | 1,510 | 6,09 | 4,580 |
| 15 „ | 1,510 | 6,09 | 4,580 |
| 30 „ | 1,510 | 6,09 | 4,580 |
| 60 „ | 1,510 | 6,09 | 4,580 |
| Am 11. IV. 1923. Abends erhält das Tier 2 mg Jodkali per os. | | | |
| Am 12. IV. 1923 morgens Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten | 1,62 | 6,49 | 4,87 |
| 15 „ | 1,59 | 6,288 | 4,69 |
| 30 „ | 1,54 | 6,09 | 4,55 |
| 60 „ | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Am 13. IV. 1923. Abends bekommt das Tier 4 mg Jodkali per os. | | | |
| Am 14. IV. 1923 morgens Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten | 1,678 | 6,56 | 4,89 |
| 15 „ | 1,600 | 6,39 | 4,79 |
| 30 „ | 1,590 | 6,19 | 4,60 |
| 60 „ | 1,510 | 6.09 | 4,58 |
| Am 16. IV. 1923 werden um 1 Uhr nachmittags 4 mg Jodkali per os gegeben. | | | |

*Tabelle VII.* (Fortsetzung.)

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blut-gesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| $4^1/_2$ Std. später Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten | 1,950 | 6,640 | 4,690 |
| 15 „ | 1,750 | 6,60 | 4,85 |
| 30 „ | 1,620 | 6,288 | 4,66 |
| 60 „ | 1,510 | 6,09 | 4,58 |

*Tabelle VIII.*

Kaninchen F, männlich, Gewicht 2300 g.

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blut-gesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* Am 1. III. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten | 1,72 | 6,56 | 4,84 |
| 15 „ | 1,67 | 6,39 | 4,72 |
| 30 „ | 1,50 | 6,11 | 4,61 |
| 60 „ | 1,51 | 6,00 | 4,49 |
| Am 4. III. 1923. Thyreoidektomie. | | | |
| *Versuch 2.* Am 6. III. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Nach der Injektion: | | | |
| 5 Minuten | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 15 „ | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 30 „ | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 60 „ | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Am 3. V. 1923 werden um 7 Uhr abends 23 ccm Serum eines gesunden Menschen mit Schlundsonde verabreicht. | | | |
| *Versuch 3.* Am 4. V. 1923. | | | |
| Vor der Injektion 10h30′ vorm. | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure 10h55′: | | | |
| 5 Minuten | 1,55 | 6,09 | 4,54 |
| 15 „ | 1,51 | 5,81 | 4,30 |
| 30 „ | 1,45 | 5,72 | 4,72 |
| 60 „ | 1,45 | 5,72 | 4,72 |

Am 4. V. 1923 werden um 7 Uhr abends 24 ccm Serum von einem thyreoidektomierten Kaninchen gefüttert.

*Tabelle VIII.* (Fortsetzung.)

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blutgesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| *Versuch 4.* Am 5. V. 1923. | | | |
| Vor der Injektion 10h vorm. | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure 10h 15′: | | | |
| 5 Minuten | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| 15 „ | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| 30 „ | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| 60 „ | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| Am 15. V. 1923 werden um 7 Uhr abends 40 ccm Serum eines jodüberempfindlichen Hautkranken[1]) per os gegeben. | | | |
| *Versuch 5.* Am 16. V. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,45 | 5,72 | 4,27 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten | 1,50 | 5,72 | 4,22 |
| 15 „ | 1,50 | 5,72 | 4,22 |
| 30 „ | 1,50 | 5,72 | 4,22 |
| 60 „ | 1,50 | 5,72 | 4,22 |

*Tabelle IX.*

Kaninchen G, weiblich, Gewicht 2530 g.

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blutgesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| *Versuch 1.* Am 11. VI. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,50 | 6,09 | 4,59 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten | 1,75 | 6,56 | 4,81 |
| 30 „ | 1,60 | 6,28 | 4,68 |
| Am 13. VI. 1923. Thyreoidektomie. | | | |
| *Versuch 2.* Am 16. VI. 1923. | | | |
| Vor der Injektion | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 30 „ | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| *Versuch 3.* Am 6. VIII. 1923. | | | |
| Nüchtern | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Um 11 Uhr vormittags werden 30 ccm Blut eines normalen Kaninchens mit der Schlundsonde verabreicht. | | | |

[1]) Das Blut stammte von einem Patienten der dermatologischen Klinik. Wenige Stunden nach Jodzufuhr trat bei demselben ein ausgedehnter Nachschub einer zurzeit erscheinungsfreien Dermatitis (Dermatitis herpetiformis Duhring) auf. Für die Überlassung des Falles sind wir Herrn Professor *Rost*, der über denselben noch an anderer Stelle berichten wird, zu Dank verpflichtet.

*Tabelle IX.* (Fortsetzung.)

| | Präformiertes Blutkreatinin mg | Blutgesamtkreatinin mg | Blutkreatin mg |
|---|---|---|---|
| Vor der Injektion um 5h nachm. . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| Nach der Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure: | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . . | 1,68 | 6,60 | 4,92 |
| 30 „ . . . . . . . . . | 1,60 | 6,40 | 4,80 |
| Am 7. VIII. 1923, 18 Stunden später, Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 5 Minuten . . . . . . . . . | 1,54 | 6,28 | 4,74 |
| 30 „ . . . . . . . . . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| *Versuch 4.* Am 14. VIII. 1923. Um 11 Uhr vormittags werden 30 ccm Blut eines thyreoidektomierten Kaninchens mit der Schlundsonde gegeben. | | | |
| 5h nachmittags . . . . . . . . . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 6 „ Injektion von 0,2 g Guanidinessigsäure nach: | | | |
| 5 Minuten . . . . . . . . . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |
| 30 „ . . . . . . . . . | 1,51 | 6,09 | 4,58 |

Da die Methylierung in allen unseren Versuchen sofort nach der Injektion der Guanidinessigsäure einsetzte und in der ersten halben Stunde schon nahezu abgelaufen war, wurden in den Versuchen der Tabelle IX aus Gründen der Materialersparnis die Blutbestimmungen auf diese Zeit beschränkt.

Die Tabelle VII gibt Versuche mit abgestuften Jodmengen wieder. Es ist daraus zu entnehmen, daß schon *kleinste* Jodmengen genügen, um den Methylierungseffekt beim schilddrüsenlosen Kaninchen wieder auszulösen. Auf diese Tatsache möchten wir gerade im Hinblick auf die Untersuchungen von *Abelin* Gewicht legen.

Normalerweise finden sich im Blute geringe Mengen von Jod. Es erschien uns deshalb auch wahrscheinlich, daß durch Fütterung von Blut dasselbe Ergebnis wie durch reine Jodzufuhr zu erreichen sei. Die Versuche der Tabellen VIII und IX bestätigen diese Vermutung. Durch Verabreichung von *Normalblut tritt beim schilddrüsenlosen Kaninchen die Methylierung der Guanidinessigsäure wieder auf*, während die Fütterung von Blut, *das von einem schilddrüsenlosen Kaninchen stammte, ganz ohne Einfluß war.* Dieser Unterschied in der Wirkung des Blutes vom normalen und schilddrüsenlosen Tiere erscheint uns bemerkenswert, wenn auch unsere Versuche noch keinen Beweis für unsere oben erwähnte Arbeitshypothese, die den wirksamen Faktor im Jodgehalt des Blutes sucht, erbringen. Darüber werden wir in weiteren Untersuchungen Klarheit zu gewinnen suchen.

Besonders erwähnenswert erscheint uns doch der Versuch V der Tabelle VIII. Es wurden 40 ccm Serum von einem überaus jodempfindlichen Patienten gefüttert. Schon wenige Stunden nach Jodzufuhr bekam derselbe einen ausgedehnten Rückfall einer Dermatitis herpetiformis. Im Gegensatz zum normalen Serum war durch Fütterung dieses Serums trotz der großen Dosis keinerlei Methylierung zu erzielen. Das Blut dieses Kranken verhielt sich also ähnlich wie das eines schilddrüsenlosen Tieres.

Ob auf diese Weise eine biologisch-klinische Präzisierung bestimmter Dysfunktionstypen der Thyreoidea möglich ist, muß erst durch weitere Untersuchungen festgestellt werden.

Die Frage nach der Abhängigkeit des Kreatin-Kreatininstoffwechsels von der Tätigkeit der Schilddrüse, die unlängst von *Schenk* in bejahendem Sinne entschieden wurde, liegt außerhalb des Rahmens dieser Arbeit. Uns diente die Guanidinessigsäure nur als leicht faßbares Substrat eines ganz bestimmten chemischen Vorganges, der Methylierung. Wohl aber scheinen unsere Untersuchungen die Ansicht *Jaffés* von der Bedeutung der Guanidinessigsäure als Kreatinvorstufe im intermediären Geschehen nicht zu stützen, da es sonst wenig verständlich wäre, daß trotz der völligen Störung der Methylierung der Guanidinessigsäure beim schilddrüsenlosen Kaninchen der Kreatin-Kreatininspiegel auch bei monatelangen Kontrolluntersuchungen intakt bleibt.

Die Tabellen X und XI zeigen in übersichtlicher Kurvenform einzelne Versuchsergebnisse der Tabellen VI und IX.

*Tabelle X.*

Normales Tier — Thyreoidektomiertes Tier — Thyreoidektomiertes Tier nach Thyreoideafütterung — Thyreoidektomiertes Tier nach Jodfütterung

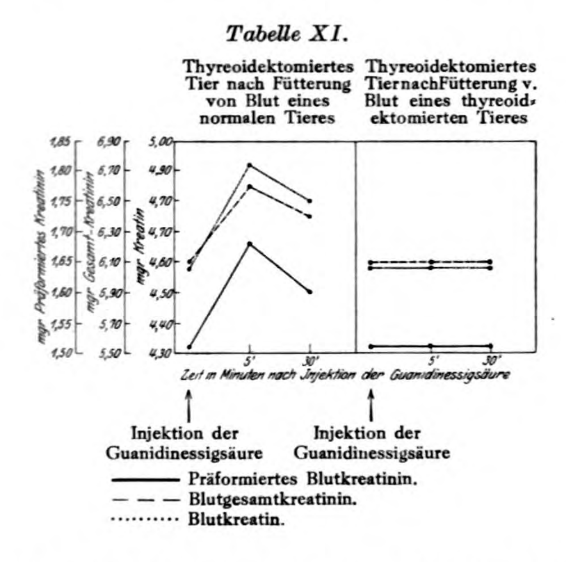
Zeit in Minuten nach Injektion der Guanidinessigsäure

Injektion der Guanidinessigsäure — Injektion der Guanidinessigsäure — Injektion der Guanidinessigsäure — Injektion der Guanidinessigsäure

——— Präformiertes Blutkreatinin.
— — — Blutgesamtkreatinin.
·········· Blutkreatin.

Nach unseren Untersuchungen liegt die biologische Bedeutung des Jods in einer ganz bestimmten Richtung. Sie zeigen das Jod als Vermittler eines wohl charakterisierten chemischen Geschehens. Die eingangs erwähnte Vermutung, daß das Jod auch im tierischen Organismus eine ähnliche Bedeutung habe für die Substitution organischer Komplexe wie im chemischen Laboratorium, hat dadurch eine experimentelle Bestätigung erfahren. *Auch der tierische Organismus dürfte sich danach zu Methylierungsprozessen des Jods bedienen.* Daß damit die Aufgabe des Jods für den Organismus nicht erschöpft sein dürfte, brauchen wir wohl nicht noch besonders zu betonen. Wir verweisen diesbezüglich auf die interessanten Untersuchungen von *Abelin* und von *Hildebrandt.*

Wir glauben durch unsere Versuche den Beweis geliefert zu haben, daß die *Methylierung der Guanidinessigsäure beim Kaninchen an die Funktion der Schilddrüse gebunden ist*. Damit ist jedoch unseres Erachtens nur *eine* Funktion der Schilddrüse einer chemischen Definition zugeführt. Es erscheint uns deshalb auch verfrüht, die Frage zu erörtern, inwieweit unsere Untersuchungen die Theorie der Schilddrüsenfunktion in dem




einen oder anderen Sinne beeinflussen könnten. Es drängen sich uns theoretische Beziehungen zu den bekannten Arbeiten von *Reid Hunt* und *P. Trendelenburg* auf. Jedoch muß, um derartigen Erörterungen nachzugehen, vorher die Frage entschieden werden, ob es sich hier nur um einen speziellen Fall handelt, oder ob wirklich die Schilddrüse allgemein als Ort der Methylsynthese zu betrachten ist. Darüber werden wir demnächst in weiteren Untersuchungen berichten.

Wir können so kurz das Ergebnis unserer Untersuchungen dahin zusammenfassen:

*Es konnte gezeigt werden, daß beim Kaninchen die Methylierung der Guanidinessigsäure an die Funktion der Schilddrüse geknüpft ist. Schilddrüsenlosen Tieren geht diese Fähigkeit völlig ab. Fütterung mit Schilddrüsensubstanz gibt den thyreoidektomierten Tieren das Methylierungsvermögen wieder. Denselben Effekt hat auch die Zufuhr von Jod und die Verabreichung von Blut normaler Tiere. Das Jod vermittelt also den Eintritt bestimmter Radikale in organische Verbindungen, in unserem Falle die Substitution durch eine Methylgruppe.*

Die Mittel zur Durchführung der Arbeit wurden uns in dankenswerter Weise von der *Rockefeller* Foundation zur Verfügung gestellt.

## Literatur.

1) *Abderhalden*, Arch. f. d. ges. Physiol. **162**, 99. — 2) *Abelin*, diese Zeitschr. **80**, 1917; **138**, 1923. — 3) *Autenrieth-Müller*, Münch. med. Wochenschr. **17**, 1911. — 4) *Baumann*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**, 1896; **22**, 1896. — 5) *Czapek*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **32**, 1894. — 6) *Dorner*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**, 1907. — 7) *Feigl*, diese Zeitschr. **81**, **84**, **87**, **105**. — 8) *Hildebrandt*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **96**. — 9) *His*, ebendaselbst **22**, 1887. — 10) *Hofmeister*, ebendaselbst **33**, 1894. — 11) *Jaffé*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**, 1906. — 12) *Kahn*, Arch. f. d. ges. Physiol. **163**. — 13) *Mandel* und *Steudel*, Minimetrische Methoden der Blutuntersuchung. Berlin-Leipzig 1921. — 14) *Neuberg* und *Grosser*, Zentralbl. f. Physiol. **19**, 1905. — 15) *Reid Hunt*, Journ. of biol. Chem. **1**, 1905. — 16) *Roos*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**, 1896; **28**, 1898. — 17) *Schenk*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **95**. — 18) *Trendelenburg*, diese Zeitschr. **29**.

# Über die Wirkung der Blutgase auf die Senkung der roten Blutkörperchen.

Von

**L. Berczeller** und **H. Wastl.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Wien.)

*(Eingegangen am 8. Oktober 1923.)*

Die Untersuchung der Einwirkung des Gasgehaltes auf die Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen ist nicht nur für den Vergleich der verschiedenen Blutarten, deren verschiedener Gasgehalt von wechselnder Wirkung sein kann, von Wichtigkeit, sondern auch darum, weil der Gasgehalt des Blutes auch während des Versuches infolge Sauerstoffzehrung und Kohlensäureproduktion eine Veränderung erleiden kann; auch bei sehr verschiedenen Eingriffen, welchen das Blut vor Anstellung des Versuches unterworfen wird, kann der wechselnde Gasgehalt einen sehr wesentlichen Einfluß ausüben. So wird das Blut beim Defibrinieren mit Sauerstoff gesättigt. Das Defibrinieren verursacht, wie es schon *Biernacki*[1]) bekannt war, eine sehr wesentliche Veränderung der Senkungsgeschwindigkeit. Ebenso kann das Schütteln des Blutes [*Fahreus*[2])] die Senkungsgeschwindigkeit eventuell auch infolge des Wechsels des Gasgehaltes beeinflussen. Alle diese Fragen sind nur durch die experimentelle Prüfung der Größe der Wirkung zu entscheiden.

Die Methodik der Versuche war dieselbe wie in der vorigen Mitteilung[3]), die Senkungsproben wurden nicht nur vertikal, sondern immer auch an den drei verschiedenen schiefen Ebenen [67,5, 45 und 22,5°) aufgestellt (Röhrchenweite meist 2 mm, Länge der Blutsäule 130 mm[4])].

Zunächst haben wir die Wirkung der Sättigung des Blutes mit Kohlensäure und Sauerstoff untersucht. Es wurden auch Versuche mit Kohlenmonoxyd und Wasserstoff in ähnlicher Weise ausgeführt. (Statt mit Kohlenmonoxyd wurden die Versuche mit Leuchtgas angestellt.)

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**, 171.

[2]) The Suspensionsstability of the Blood. Stockholm 1921.

[3]) Diese Zeitschr. 1923.

[4]) Gilt für alle angeführten Versuche.

Die Untersuchung der Senkung im Sättigungszustande mit einem bestimmten Gase ist insbesondere für die Standardisierung der Resultate am zweckmäßigsten, besonders, wenn man die Wirkung des Defibrinierens oder anderer Veränderungen des Blutes untersuchen will. Wir haben die Versuche außer auf Menschenblut auch auf das Blut anderer Tierarten ausgedehnt, denn die Resultate lassen sich nicht für alle Blutarten, ja sogar bisweilen auch nicht für verschiedene Blutproben derselben Spezies verallgemeinern. Wir müssen von der fallweisen Besprechung aller unserer Resultate absehen und teilen nur einige charakteristische Fälle mit, denn insbesondere quantitativ läßt sich vorläufig der Einfluß des Gasgehaltes auf die Senkung nicht genau bestimmen.

Zunächst soll gezeigt werden, daß bei der gewöhnlich zu diagnostischen Zwecken geübten Methodik (Senkung in vertikalen Röhrchen) bei der Sättigung mit Gasen im menschlichen Blute keine wesentlichen Unterschiede zu beobachten sind.

*Tabelle I.*

Normale menschliche Blutproben (Oxalatblut, Zusatz von etwa 4proz. konzentrierter Na-Oxalatlösung). Senkungsröhren 90°. Freie Plasmahöhen in Millimetern.

| Zeit in Minuten | ♂ | | | | Zeit in Minuten | ♀ | | | Zeit in Minuten | Nabelschnurblut | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | venös | Sättigung | | | | Sättigung | | | | venös | Sättigung | |
| | | $O_2$ | $CO_2$ | CO | | $O_2$ | $CO_2$ | CO | | | $O_2$ | $CO_2$ |
| 10 | 0,50 | 0 | 0,25 | 0,25 | 10 | 0 | 0,50 | 0 | 60 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | 1,00 | 1,25 | 1,00 | 1,00 | 20 | 0 | 1,00 | 0 | 260 | 0,50 | 0,50 | 0,50 |
| 30 | 1,25 | 1,25 | 1,25 | 1,25 | 30 | 1,00 | 1,50 | 1,00 | 480 | 1,50 | 1,50 | 1,00 |
| 40 | 1,50 | 1,50 | 2,00 | 1,50 | 40 | 1,50 | 1,75 | 1,50 | 1600 | 2,50 | 3,50 | 1,75 |
| 50 | 2,00 | 2,00 | 2,25 | 1,50 | 50 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | | | | |
| 80 | 3,75 | 3,50 | 3,00 | 2,25 | 80 | 2,50 | 2,00 | 2,75 | | | | |
| 110 | 4,50 | 4,50 | 4,00 | 3,00 | 110 | 3,00 | 3,00 | 4,00 | | | | |
| 1100 | 16,50 | 23,00 | 5,00 | 15,00 | 140 | 4,50 | 4,00 | 4,50 | | | | |
| 3000 | 21,50 | 30,00 | 11,50 | 17,00 | 200 | 6,00 | 5,50 | 6,00 | | | | |
| | | | | | 950 | 35,00 | 25,00 | 33,00 | | | | |
| | | | | | 1370 | 39,00 | 30,00 | 37,00 | | | | |
| | | | | | 2700 | 44,00 | 34,00 | 40,00 | | | | |

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß die Senkung der roten Blutkörperchen in den ersten 2 bis 3 Stunden des Senkungsvorganges in vertikalen Röhren durch Sättigung mit Gasen beim menschlichen Blute fast nicht beeinflußt wird. Das mit $CO_2$ gesättigte Blut zeigt im Versuchsbeginn eine geringe Beschleunigung der Bewegung gegenüber dem mit $O_2$ und mit CO gesättigten Blute, die in absolutem Maße ganz gering ist. (In den schiefgestellten Röhren ist diese Erscheinung jedoch besser nachweisbar.) Das Nabelschnurblut senkt sich so langsam, daß man in den ersten 4 Stunden nur eine minimale Senkung beobachten

kann. Im späteren Verlaufe der Senkung zeigt sich, daß sich in allen drei Blutproben die mit $O_2$ beladenen Blutkörperchen am schnellsten senken und am langsamsten die mit $CO_2$ gesättigten Proben. Zwischen den Werten des mit $O_2$ bzw. $CO_2$ gesättigten Blutes liegen sowohl beim männlichen wie beim weiblichen Blute die mit CO gesättigtem Blute erhaltenen Zahlen. Diese Versuche wurden mit Oxalatplasmen angestellt. Mit anderen Plasmen sind die Resultate diesbezüglich ähnliche.

In Tabelle II haben wir gleich ausgeführte Versuche mit defibriniertem Blute derselben Blutproben angeführt.

*Tabelle II.*

Normale menschliche Blutproben: Defibriniert. Senkungsröhren bei 90°. Freie Serumhöhen in Millimetern.

| Zeit in Minuten | ♂ | | Zeit in Minuten | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Sättigung | | | Sättigung | |
| | $O_2$ | $CO_2$ | | $O_2$ | $CO_2$ |
| 30 | 0,20 | 0 | 20 | 0,50 | 0 |
| 50 | 0,50 | 0,25 | 40 | 1,00 | 0,50 |
| 80 | 0,75 | 0,50 | 60 | 1,25 | 0,75 |
| 110 | 1,25 | 0,50 | 80 | 1,50 | 0,75 |
| 170 | 1,25 | 0,50 | 110 | 1,75 | 1,00 |
| | | | 140 | 2,00 | 1,00 |
| | | | 220 | 2,50 | 1,75 |
| | | | 910 | 8,50 | 4,00 |
| | | | 1340 | 11,00 | 5,00 |

Aus Tabelle II ist ersichtlich, daß in den ersten Stunden des Versuches keine wesentlichen Unterschiede in der Senkungsgeschwindigkeit des $O_2$- bzw. $CO_2$-Blutes nachweisbar sind. Später senkt sich das $O_2$-beladene Blut wieder etwas schneller.

Bei den diagnostischen Untersuchungen, bei denen die Versuche in senkrechten Röhren aufgestellt werden, wird also der Gasgehalt *keinen wesentlichen* Einfluß auf die Resultate ausüben. Diese Erscheinung ist aber die Resultante von verschiedenen Wirkungen, welche im menschlichen Blute unter den angegebenen Bedingungen ausbalanciert sind, denn bei Schiefstellung der Röhrchen beobachten wir eine Beeinflussung der Senkung durch den Gasgehalt auch im menschlichen Blute, und andererseits sind beim Blute mancher Tiere in einigen Fällen sehr wesentliche Veränderungen der Senkung auch in vertikalen Röhren zu beobachten.

Wir führen noch einige Versuche beispielsweise dafür an.

Aus Tabelle III ersehen wir zunächst, daß die Differenzen in den Senkungshöhen bei der Sättigung desselben Blutes mit verschiedenen Gasen besser nachweisbar werden, was nicht allein auf eine einseitige

*Tabelle III.*

Normale menschliche Blutproben (Oxalatplasma) venös und mit Gasen gesättigt. Senkungsröhren an schiefen Ebenen aufgestellt. Freie Plasmahöhen in mm.

$67^1/_2{}^0$

| Zeit in Minuten | ♂ Sättigung venös | ♂ Sättigung $O_2$ | ♂ Sättigung $CO_2$ | ♂ Sättigung CO | Zeit in Minuten | Sättigung $O_2$ | Sättigung $CO_2$ | Sättigung CO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 2,00 | 1,50 | 1,50 | 2,50 | 10 | 2,00 | 3,50 | 1,00 |
| 20 | 9,00 | 8,00 | 6,50 | 10,00 | 20 | 7,50 | 11,00 | 7,00 |
| 30 | 15,00 | 14,50 | 12,50 | 16,00 | 30 | 15,00 | 16,50 | 16,00 |
| 40 | 20,50 | 21,00 | 18,00 | 23,00 | 40 | 21,00 | 22,00 | 22,00 |
| 50 | 25,00 | 26,00 | 22,00 | 28,00 | 50 | 26,00 | 25,00 | 27,00 |
| 80 | 34,00 | 36,00 | 31,00 | 35,00 | 80 | 34,50 | 34,00 | 39,00 |
| 110 | 40,00 | 42,00 | 36,50 | 41,00 | 110 | 43,00 | 39,00 | 45,00 |
| 1100 | 56,00 | 58,50 | 50,00 | 55,00 | 140 | 47,00 | 42,00 | 47,00 |
| 3000 | 58,00 | 59,00 | 52,00 | 58,00 | 200 | 50,00 | 44,00 | 50,00 |
| | | | | | 950 | 61,00 | 50,00 | 57,00 |
| | | | | | 1370 | 62,00 | 51,00 | 58,00 |
| | | | | | 2700 | 65,00 | 51,00 | 60,00 |

$45^0$

| Zeit in Minuten | ♂ Sättigung venös | ♂ Sättigung $O_2$ | ♂ Sättigung $CO_2$ | ♂ Sättigung CO | Zeit in Minuten | Sättigung $O_2$ | Sättigung $CO_2$ | Sättigung CO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 6,50 | 3,50 | 10,00 | 7,00 | 10 | 4,00 | 8,00 | 2,00 |
| 20 | 20,00 | 21,00 | 20,00 | 21,00 | 20 | 20,00 | 20,00 | 13,00 |
| 30 | 28,50 | 29,50 | 29,00 | 30,00 | 30 | 29,00 | 26,50 | 28,00 |
| 40 | 36,00 | 38,00 | 34,00 | 37,00 | 40 | 36,00 | 33,00 | 36,00 |
| 50 | 40,50 | 43,00 | 38,00 | 42,00 | 50 | 40,00 | 36,00 | 41,00 |
| 80 | 49,00 | 50,00 | 45,00 | 50,00 | 80 | 46,50 | 42,00 | 49,00 |
| 110 | 52,00 | 54,00 | 49,00 | 53,00 | 110 | 51,00 | 45,50 | 51,00 |
| 1100 | 66,00 | 66,00 | 56,00 | 64,00 | 140 | 53,00 | 47,00 | 53,00 |
| 3000 | 68,00 | 67,00 | 58,00 | 65,00 | 200 | 56,00 | 48,00 | 55,50 |
| | | | | | 950 | 65,00 | 54,00 | 61,00 |
| | | | | | 1370 | 66,00 | 55,00 | 62,00 |
| | | | | | 2700 | 66,00 | 56,00 | 62,00 |

$22^1/_2{}^0$

| Zeit in Minuten | ♂ Sättigung venös | ♂ Sättigung $O_2$ | ♂ Sättigung $CO_2$ | ♂ Sättigung CO | Zeit in Minuten | ♀ Sättigung $O_2$ | ♀ Sättigung $CO_2$ | ♀ Sättigung CO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 8,00 | 4,25 | 14,00 | 9,00 | 10 | 5,00 | 9,00 | 2,50 |
| 20 | 27,00 | 27,00 | 27,00 | 30,00 | 20 | 25,00 | 27,00 | 15,50 |
| 30 | 37,00 | 40,00 | 37,00 | 41,00 | 30 | 38,00 | 35,00 | 34,00 |
| 40 | 45,00 | 50,00 | 41,00 | 48,00 | 40 | 43,00 | 40,00 | 41,00 |
| 50 | 50,00 | 53,00 | 46,00 | 52,00 | 50 | 48,00 | 43,00 | 46,50 |
| 80 | 57,00 | 61,00 | 52,00 | 58,00 | 80 | 52,00 | 48,00 | 53,00 |
| 110 | 60,00 | 67,00 | 55,00 | 60,00 | 110 | 56,00 | 51,00 | 57,00 |
| 1100 | 70,00 | 76,00 | 63,00 | 69,00 | 140 | 58,00 | 54,00 | 59,00 |
| 3000 | 71,00 | 76,00 | 66,00 | 69,00 | 200 | 61,00 | 56,00 | 61,00 |
| | | | | | 950 | 70,00 | 63,00 | 69,00 |
| | | | | | 1370 | 70,00 | 63,00 | 70,00 |
| | | | | | 2700 | 70,00 | 64,00 | 71,00 |

*Tabelle IV.*

Verhältniszahlen der Wegstrecken $O_2/CO$ bzw. $CO/O_2$ nach den ersten 10 Minuten.

| | $67^1/_2{}^0$ | $45^0$ | $22^1/_2{}^0$ |
|---|---|---|---|
| $CO/O_2$ ♂ . . . | 1,7 | 2,0 | 2,1 |
| $O_2/CO$ ♀ . . . | 2,0 | 2,0 | 2,0 |

Vergrößerung der Fallhöhen zurückzuführen ist; in diesem Falle ist die Senkung auf schiefen Ebenen ein viel empfindlicherer Indikator für die Veränderung des Blutes als die Senkung in vertikalen Röhrchen. Diese Beobachtung steht in vollem Einklange damit, was wir bei den Verdünnungsversuchen nachweisen konnten.

In den vertikalen Röhren konnte erst nach einer mehrstündigen Versuchsdauer die verlangsamte Bewegung des mit $CO_2$ gesättigten Blutes gegenüber den anderen Blutproben nachgewiesen werden, was an den schiefen Ebenen schon viel früher in Erscheinung tritt (unter verschiedenen Versuchsbedingungen nach 20 bis 50 Minuten). In ähnlicher Weise verhält sich auch das mit CO gesättigte Blut. Abgesehen vom Beginn des Versuches, steht das mit CO gesättigte Blut in seinem Verhalten zwischen den mit $O_2$ und $CO_2$ gesättigten Proben.

Merkwürdig ist nun, daß die mit $O_2$ und $CO_2$ gesättigten Proben sich nicht gleichmäßig während des ganzen Ablaufes der Senkung verhalten, indem bei den mit $CO_2$ gesättigten Proben im Beginn regelmäßig eine leichte Beschleunigung der Senkung nachzuweisen ist. Diese ist in den ersten 10 Minuten unter optimalen Bedingungen so groß, daß die $O_2$-gesättigten Proben zwei- bis dreimal langsamer sinken als die mit $CO_2$ gesättigten. Diese Erscheinung ist um so auffallender, als für die Wirkung des $CO_2$ a priori eher eine Verlangsamung anzunehmen wäre:

1. Weil die Viskosität des Blutes durch $CO_2$ zunimmt und
2. weil durch $O_2$ die Agglutination stärker wird.

Das Verhalten des CO im Versuchsbeginn ist bei den beiden Blutproben nicht gleichmäßig, deswegen soll darauf erst später näher eingegangen werden. Beim männlichen Blute sehen wir eine Beschleunigung, beim weiblichen dagegen eine sogar quantitativ dem männlichen inverse Verlangsamung der Bewegung, wie dies aus Tabelle IV ersichtlich ist.

Die Verhältniszahlen der Wegstrecken in den ersten 10 Minuten sind bei männlichem Blute bei den drei schiefen Ebenen nicht ganz konstant, sie bewegen sich aber um 2. Beim Blute ist die reziproke Konstante ebenfalls genau 2.

In Tabelle V sind Versuche mit denselben Blutproben wie in Tabelle III (defibriniertes Blut), auf die gleiche Weise untersucht, angegeben.

Die Senkung in den Seren verhält sich viel gleichmäßiger als in den Plasmen, denn

1. die Senkungskurven der mit verschiedenen Gasen gesättigten Blutproben schneiden sich nicht,
2. das mit $O_2$ gesättigte Blut verhält sich dem mit CO gesättigten viel ähnlicher, als dies im Plasmaversuch der Fall war,

Senkungsröhren an schiefen Ebenen aufgestellt. Freie Plasmahöhen in mm.

**$67^1/_2{}^0$**

| ♂ Zeit in Min. | ♂ Sättigung $O_2$ | ♂ Sättigung $CO_2$ | ♂ Sättigung CO | ♀ Zeit in Min. | ♀ Sättigung $O_2$ | ♀ Sättigung $CO_2$ | ♀ Sättigung CO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 30 | 3,50 | 1,50 | 3,00 | 20 | 2,25 | 0,50 | 2,00 |
| 50 | 8,50 | 3,50 | 7,00 | 40 | 6,50 | 3,00 | 6,50 |
| 80 | 18,00 | 8,50 | 15,50 | 60 | 12,00 | 5,00 | 12,50 |
| 110 | 25,00 | 12,50 | 21,00 | 80 | 17,00 | 8,00 | 15,50 |
| 170 | 31,00 | 19,00 | 28,00 | 110 | 21,00 | 12,50 | 20,00 |
| 1130 | 51,00 | 40,00 | 52,00 | 140 | 25,00 | 15,50 | 24,00 |
| 3010 | 52,00 | 45,00 | 56,00 | 220 | 32,00 | 19,00 | 27,00 |
| | | | | 910 | 48,00 | 36,00 | 44,00 |
| | | | | 1340 | 51,00 | 39,00 | 45,00 |
| | | | | 2660 | 53,00 | 41,00 | 46,00 |

**$45^0$**

| ♂ Zeit in Min. | ♂ Sättigung $O_2$ | ♂ Sättigung $CO_2$ | ♂ Sättigung CO | ♀ Zeit in Min. | ♀ Sättigung $O_2$ | ♀ Sättigung $CO_2$ | ♀ Sättigung CO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 30 | 10,00 | 4,50 | 10,00 | 20 | 8,00 | 2,25 | 7,00 |
| 50 | 21,00 | 9,00 | 18,00 | 40 | 18,00 | 9,00 | 15,00 |
| 80 | 34,50 | 20,00 | 30,00 | 60 | 26,00 | 13,00 | 22,00 |
| 110 | 39,50 | 25,00 | 36,00 | 80 | 32,00 | 18,00 | 27,00 |
| 170 | 45,50 | 32,00 | 42,00 | 110 | 36,00 | 24,00 | — |
| 1130 | 59,00 | 48,00 | 59,00 | 140 | 39,00 | 27,50 | — |
| 3010 | 61,00 | 53,00 | 61,00 | 220 | 45,00 | 35,00 | — |
| | | | | 910 | 55,00 | 49,00 | — |
| | | | | 1340 | 57,00 | 51,00 | — |
| | | | | 2660 | 58,00 | 52,00 | — |

**$22^1/_2{}^0$**

| ♂ Zeit in Min. | ♂ Sättigung $O_2$ | ♂ Sättigung $CO_2$ | ♂ Sättigung CO | ♀ Zeit in Min. | ♀ Sättigung $O_2$ | ♀ Sättigung $CO_2$ | ♀ Sättigung CO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 30 | 12,50 | 4,00 | 11,00 | 20 | 10,00 | 2,50 | 7,00 |
| 50 | 26,00 | 14,00 | 23,50 | 40 | 20,00 | 13,00 | 20,00 |
| 80 | 41,00 | 21,00 | 38,00 | 60 | 31,00 | 21,00 | 30,00 |
| 110 | 46,00 | 27,00 | 43,00 | 80 | 37,00 | 28,00 | 36,50 |
| 170 | 51,00 | — | — | 110 | 41,00 | 34,50 | 42,00 |
| 1130 | 63,00 | — | — | 140 | 45,00 | 38,00 | 46,00 |
| 3010 | 63,00 | — | — | 220 | 50,00 | 45,00 | 50,00 |
| | | | | 910 | 60,00 | 57,00 | 61,00 |
| | | | | 1340 | 60,00 | 57,00 | 61,00 |
| | | | | 2660 | 63,00 | 58,00 | 63,00 |

*Tabelle VI.* **Die Wirkung von $O_2$ und $CO_2$ auf die Senkung im Plasma und Serum (Menschenblut).**

$$\text{Verhältniszahlen: } \frac{\text{Wege in } CO_2\text{-gesättigtem Blut}}{\text{Wege in } O_2\text{-gesättigtem Blut}}$$

**♂**

| Zeit in Minuten | Plasma $67^1/_2{}^0$ | Plasma $45^0$ | Plasma $22^1/_2{}^0$ | Zeit in Minuten | Serum $67^1/_2{}^0$ | Serum $45^0$ | Serum $22^1/_2{}^0$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 1,00 | 2,90 | 3,30 | 30 | 0,43 | 0,45 | 0,32 |
| 20 | 0,81 | 0,95 | 1,00 | 50 | 0,64 | 0,43 | 0,54 |
| 30 | 0,86 | 0,98 | 0,92 | 80 | 0,48 | 0,58 | 0,51 |
| 40 | 0,80 | 0,92 | 0,82 | 110 | 0,50 | 0,63 | 0,59 |
| 50 | 0,90 | 0,88 | 0,86 | 170 | 0,60 | 0,70 | — |
| 80 | 0,87 | 0,90 | 0,85 | 1130 | 0,78 | 0,81 | — |
| 110 | 0,87 | 0,90 | 0,82 | 3010 | 0,88 | 0,87 | — |
| 1100 | 0,86 | 0,84 | 0,83 | | | | |
| 3000 | 0,90 | 0,87 | 0,89 | | | | |

**♀**

| Zeit in Minuten | Plasma $67^1/_2{}^0$ | Plasma $45^0$ | Plasma $22^1/_2{}^0$ | Zeit in Minuten | Serum $67^1/_2{}^0$ | Serum $45^0$ | Serum $22^1/_2{}^0$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 1,75 | 2,00 | 1,80 | 20 | 0,22 | 0,28 | 0,25 |
| 20 | 1,47 | 1,00 | 1,10 | 40 | 0,47 | 0,50 | 0,65 |
| 30 | 1,10 | 0,91 | 0,92 | 60 | 0,42 | 0,50 | 0,68 |
| 40 | 1,05 | 0,91 | 0,93 | 80 | 0,47 | 0,56 | 0,76 |
| 50 | 0,97 | 0,90 | 0,89 | 110 | 0,59 | 0,66 | 0,84 |
| 80 | 0,99 | 0,90 | 0,92 | 140 | 0,62 | 0,70 | 0,84 |
| 110 | 0,90 | 0,89 | 0,91 | 220 | 0,59 | 0,78 | 0,90 |
| 140 | 0,90 | 0,88 | 0,93 | 910 | 0,75 | 0,89 | 0,95 |
| 200 | 0,88 | 0,86 | 0,91 | 1340 | 0,72 | 0,89 | 0,95 |
| 950 | 0,82 | 0,83 | 0,90 | 2660 | 0,77 | 0,89 | 0,92 |
| 1370 | 0,82 | 0,84 | 0,90 | | | | |
| 2700 | 0,80 | 0,85 | 0,91 | | | | |

3. die Unterschiede zwischen männlichem und weiblichem Blute sind auch bei CO-Sättigung konstant.

Gegenüber den vertikalen Röhren ist auch in dem Falle die Gaswirkung in den schiefgestellten Röhren besser nachweisbar.

Bei den defibrinierten Proben senkt sich das mit $CO_2$ gesättigte Blut ständig bedeutend langsamer als das mit $O_2$ gesättigte, besonders quantitativ ist der Unterschied zwischen Plasma und Serum sehr groß.

In Tabelle VI sind die Verhältniszahlen der Senkungshöhen von mit $O_2$ und $CO_2$ gesättigten Blutproben gegeben (Plasma und Serum) (Tabelle III und V).

Wenn wir von den ersten 30 bis 40 Minuten des Versuchsbeginns absehen, sehen wir, daß die Verhältniszahlen in den verschiedenen schiefen Ebenen in den Plasmaversuchen konstant sind, die Unterschiede zwischen männlichem und weiblichem Blute sind auch vollständig vernachlässigbar, wie dies besonders aus den in Tabelle VII angegebenen Mittelwerten ersichtlich ist.

*Tabelle VII.*

Mittelwerte der Verhältniszahlen: $\frac{\text{Wege in } CO_2\text{-gesättigtem Blut}}{\text{Wege in } O_2\text{-gesättigtem Blut}}$

| Die Konstante ist gerechnet bei: | $67^1/_2{}^0$ | $45^0$ | $22^1/_2{}^0$ |
|---|---|---|---|
| ♂ zwischen 40—4000 Minuten . . | 0,88 | 0,88 | 0,85 |
| ♀ „ 50—2700 „ . . | 0,89 | 0,87 | 0,90 |

Die Verlangsamung der Senkung beträgt im Plasma 10 bis 15 Proz. der Senkungshöhen bei $CO_2$-gesättigtem Blute gegenüber dem mit $O_2$ gesättigten. Da wir die nach beendeter Senkung erreichten Blutkörperchensäulen dem wahren Volumen der roten Blutkörperchen proportional annehmen können, können wir daraus folgern, daß die Verlangsamung der Senkung schon von der 40. bis 50. Minute des Versuches infolge der bekannten Vergrößerung des Volumens der roten Blutkörperchen in $CO_2$-Blut einen konstanten Unterschied zwischen $O_2$- und $CO_2$-Blut hervorruft.

In den Seren sind nun die Verhältnisse, wie dies aus Tabelle VI ersichtlich ist, ganz andere. Schon vom Versuchsbeginn an ist eine regelmäßige Zunahme der Verhältniszahlen der Wege $CO_2/O_2$ nachweisbar, welche mit viel geringeren Werten (bei männlichem Blute mit etwa der Hälfte, bei weiblichem Blute mit etwa einem Viertel) beginnt, als die konstante Verhältniszahl im Plasma ist. Am Ende des Versuches erreicht sie die im Plasma beobachtete Verhältniszahl.

Die Verlangsamung der Senkung in $CO_2$-Blut ist also gegenüber $O_2$-Blut in den Seren viel ausgeprägter als in den Plasmen. Der maximale

Unterschied liegt im Versuchsbeginn und wird bis zum vollständigen Niedersinken der roten Blutkörperchen ausgeglichen.

Diese Erscheinung könnte nun zunächst damit erklärt werden, daß die Senkung in Seren viel langsamer abläuft als in Plasmen, und daß sich deswegen ein hemmender Einfluß viel besser im Serum nachweisen läßt als im Plasma, wo er neben dem beschleunigenden Effekt des Fibrinogens in den Hintergrund treten muß. Andererseits besteht aber die Möglichkeit, daß $O_2$ oder $CO_2$ auf das Fibrinogen einwirken kann, eine Wirkung, die im Serum wegfällt. Diese Frage können wir durch den Vergleich des $O_2$-Blutes mit dem CO-Blute näher untersuchen. In Tabelle VIII sind die Verhältniszahlen

$$\frac{\text{Senkungshöhen des CO-gesättigten Blutes}}{\text{Senkungshöhen des } O_2\text{-gesättigten Blutes}}$$

angegeben.

*Tabelle VIII.*

Die Wirkung von $O_2$ und CO auf die Senkung im Plasma und Serum (Menschenblut).

Verhältniszahlen: $\frac{\text{Wege in CO-gesättigtem Blut}}{\text{Wege in } O_2\text{-gesättigtem Blut}}$

| ♂ | | | | | | | | ♀ | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Zeit in Min. | Plasma | | | Zeit in Min. | Serum | | | Zeit in Min. | Plasma | | | Zeit in Min. | Serum | | |
| | 67½° | 45° | 22½° | | 67½° | 45° | 22½° | | 67½° | 45° | 22½° | | 67½° | 45° | 22½° |
| 10 | 1,70 | 2,00 | 2,10 | 30 | 0,86 | 1,00 | 0,88 | 10 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 20 | 0,89 | 0,87 | 0,70 |
| 20 | 1,20 | 1,00 | 1,10 | 50 | 0,82 | 0,86 | 0,90 | 20 | 0,93 | 0,65 | 0,62 | 40 | 1,00 | 0,84 | 1,00 |
| 30 | 1,10 | 1,00 | 1,00 | 80 | 0,86 | 0,87 | 0,92 | 30 | 1,10 | 0,99 | 0,84 | 60 | 1,04 | 0,85 | 0,97 |
| 40 | 1,10 | 0,98 | 0,96 | 110 | 0,84 | 0,91 | 0,93 | 40 | 1,05 | 1,00 | 0,95 | 80 | 0,91 | — | 0,99 |
| 50 | 1,10 | 0,98 | 0,98 | 170 | 0,90 | 0,92 | — | 50 | 1,04 | 1,02 | 0,97 | 110 | 0,95 | — | 1,02 |
| 80 | 0,97 | 1,00 | 0,96 | 1130 | 1,02 | 1,00 | — | 80 | 1,13 | 1,05 | 1,02 | 140 | 0,96 | — | 1,02 |
| 110 | 0,98 | 0,98 | 0,89 | 3010 | 1,08 | 1,00 | — | 110 | 1,05 | 1,00 | 1,02 | 220 | 0,87 | — | 1,00 |
| 1100 | 0,94 | 0,97 | 0,88 | | | | | 140 | 1,00 | 1,00 | 1,02 | 910 | 0,92 | — | 1,01 |
| 3000 | 0,98 | 0,97 | 0,88 | | | | | 200 | — | — | — | 1340 | 0,88 | — | 1,01 |
| | | | | | | | | 950 | 0,93 | 0,93 | 0,98 | 2660 | 0,87 | — | 1,00 |
| | | | | | | | | 1370 | 0,93 | 0,93 | 1,00 | | | | |
| | | | | | | | | 2700 | 0,92 | 0,93 | 1,01 | | | | |

Aus Tabelle VIII ist ersichtlich, daß die Seren sich gegenüber Gassättigung wieder konstant verhalten. Man kann aber keine so konstante Gesetzmäßigkeit wie im Verhalten des $CO_2$-gesättigten Blutes nachweisen, da die Verhältniszahlen um 1 liegen (oberhalb und unterhalb), wenn auch im Wechsel darin eine gewisse Regelmäßigkeit vorhanden zu sein scheint.

Im Plasma des männlichen Blutes senken sich die roten Blutkörperchen konstant schneller, wenn es mit CO gesättigt ist, im weiblichen Blute dagegen im $O_2$-gesättigten Blute, wie darauf schon hingewiesen wurde. Da hier im letzten Falle die konstante Verlangsamung

in schneller sinkendem Blute im Verlaufe des Senkungsvorganges verschwindet, ist schon damit ausgeschlossen, daß beim $CO_2$ die Verlangsamung zufolge Mehrhervortreten des verlangsamenden Faktors verursacht wird, um so mehr, als bei $CO_2$-Sättigung im Plasma (schneller sinkendes Blut) bei maximaler Verlangsamung — zu Versuchsbeginn — eine Beschleunigung der Senkung zu beobachten war, dagegen ist in diesem Falle im Serum (im langsamer sinkenden Blute) eine geringere Verlangsamung der Senkung im Beginn zu beobachten als im Plasma.

Daraus können wir folgern, daß die Differenzen, welche durch die Sättigung mit den verschiedenen Gasen verursacht werden, aus zwei Faktoren zusammengesetzt sind.

1. Aus Wirkungen auf die roten Blutkörperchen; in diesen ist die Volumenvergrößerung durch $CO_2$ sehr eklatant und konstant nachweisbar (Kontrollversuche mit dem Hämatokrit).

2. Aus Wirkungen auf das Fibrinogen. Da das Fibrinogen ein sehr leicht quellbarer Eiweißkörper ist, wäre damit eine $CO_2$-Wirkung gut zu erklären, indem durch Veränderung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration das Fibrinogen verändert wird; andererseits wirkt das Fibrinogen aber gegen eine $H^{\cdot}$-Ionenwirkung als Puffer. Es hemmt also die senkungsverlangsamende Wirkung auf die Blutkörperchen, darum wäre die Verlangsamung in der Senkung der roten Blutkörperchen durch $CO_2$-Sättigung im Serum viel mehr ausgesprochen als im Plasma. Andererseits finden wir aber zwischen $O_2$ und $CO$ auch große Unterschiede, in einem Falle, wo die Gegenwart des Fibrinogens nicht stabilisierend wirkt, sondern entgegengesetzt die Labilität des Plasmas hervorruft. Einerseits differiert das Verhalten der verschiedenen Blutproben mehr, wenn wir die Senkung in Plasmen, als wenn wir sie in den Seren untersuchen, andererseits ist die durch die Gase hervorgerufene Veränderung des Senkungsvorganges durch $CO$ und $O_2$ in Plasmen mit der Zeit eine viel größere als in den Seren.

Jedenfalls ist mit diesen Versuchen bewiesen, daß man zur Erklärung der Gaswirkung auf die Senkung nur von der *Senkung im Serum* ausgehen kann, und daß das Fibrinogen mit den in dem Blute gelösten Gasen in Wechselwirkung tritt. Um die Gaswirkung auf die Senkung im Serum näher untersuchen zu können, bedarf es aber des Nachweises, ob Plasma und Serum sich *allein* im Fibrinogengehalt betreffs des Senkungsvorganges unterscheiden, wie wir darauf schon in der vorhergehenden Mitteilung hingewiesen haben.

Bevor aber auf die Untersuchung dieser Frage eingegangen werden soll, möchten wir an einigen Versuchsbeispielen demonstrieren, daß die beim menschlichen Blute gefundenen Resultate keinesfalls einfach auf das Blut anderer Tiere übertragen werden dürfen.

Bekanntlich senkt sich Pferdeblut viel schneller als anderes Tierblut im allgemeinen, deswegen stößt es auch auf größere Schwierigkeiten, die Ablesungen auszuführen. Um so größer fallen aber auch die Unterschiede aus.

*Tabelle IX.*

Weibliches Pferdeblut. Freie Plasmahöhen in Millimetern.

| Zeit in Minuten | 90° | | | 67½° | | | 45° | | | 22½° | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | venös | Sättigung $O_2$ | Sättigung $CO_2$ | venös | Sättigung $O_2$ | Sättigung $CO_2$ | venös | Sättigung $O_2$ | Sättigung $CO_2$ | venös | Sättigung $O_2$ | Sättigung $CO_2$ |
| | | | | | | Oxalatplasma. | | | | | | |
| 20 | 0 | 0,50 | 1,00 | 4,00 | 3,50 | 3,50 | 2,50 | 8,00 | 7,50 | 10,50 | 12,00 | 9,00 |
| 40 | 0,75 | 1,50 | 3,00 | 15,00 | 12,50 | 17,00 | 21,00 | 17,00 | 21,00 | 27,00 | 21,00 | 25,00 |
| 60 | 2,00 | 2,50 | 6,50 | 24,00 | 19,00 | 27,00 | 30,00 | 26,00 | 29,00 | 36,00 | 31,00 | 33,00 |
| 80 | — | 4,25 | 8,50 | — | 26,00 | 33,00 | — | 33,00 | 35,00 | — | 38,00 | 39,00 |
| 100 | — | 6,00 | 11,00 | — | 31,00 | 37,00 | — | 39,00 | 39,00 | — | 43,00 | 43,00 |
| 115 | — | 8,50 | — | — | 46,00 | — | — | 41,00 | 42,00 | — | 44,00 | 47,00 |
| 130 | — | — | 16,50 | — | — | 40,00 | — | — | — | — | — | — |
| 310 | 8,00 | — | — | 51,00 | — | — | 53,50 | — | — | 59,00 | — | — |
| 385 | — | 26,50 | — | — | 53,00 | — | — | 56,00 | — | — | 58,00 | — |
| 400 | — | — | 30,00 | — | — | 53,00 | — | — | 56,00 | — | — | 57,00 |
| 1100 | 18,00 | 34,00 | 40,00 | 58,00 | 61,00 | 59,00 | 60,00 | 62,00 | 60,00 | 67,00 | 64,00 | 62,00 |
| | | | | | | Citratplasma. | | | | | | |
| 10 | — | 16,00 | — | — | 54,00 | — | — | 74,00 | — | — | 85,00 | — |
| 20 | 1,25 | 46,00 | 12,50 | 10,50 | 80,00 | 67,00 | 15,00 | 85,00 | 69,00 | 22,00 | 91,00 | 72,00 |
| 40 | 7,00 | 75,00 | 33,00 | 24,00 | 87,00 | 74,00 | 29,00 | 89,00 | 78,00 | 37,00 | 94,00 | 80,00 |
| 60 | 14,00 | 85,00 | 56,00 | 36,00 | 89,00 | 76,00 | 39,00 | 90,00 | 80,00 | 46,00 | 96,00 | 82,00 |
| 80 | — | 88,00 | 66,00 | — | 90,00 | 76,00 | — | 91,00 | 81,50 | — | 96,00 | 82,00 |
| 100 | — | — | 71,00 | — | — | 77,00 | — | — | 82,00 | — | — | 83,00 |
| 105 | — | 90,00 | — | — | 91,00 | — | — | 92,00 | — | — | 98,00 | — |
| 120 | — | — | 74,00 | — | — | 78,00 | — | — | 83,00 | — | — | 84,00 |
| 300 | 43,00 | — | — | 51,00 | — | — | 56,00 | — | — | 59,00 | — | — |
| 375 | — | 94,00 | — | — | 93,50 | — | — | 94,00 | — | — | 98,00 | — |
| 390 | — | — | 83,00 | — | — | 80,00 | — | — | 85,00 | — | — | 86,00 |
| 1100 | 48,00 | 94,00 | 86,00 | 56,00 | 94,00 | 80,00 | 58,00 | — | — | 62,00 | 98,00 | 86,00 |
| | | | | | | Defibriniertes Blut. | | | | | | |
| 20 | 0,50 | 0,75 | 1,00 | 5,25 | 6,50 | 2,00 | 12,00 | 11,50 | 5,00 | 15,50 | 12,50 | 7,00 |
| 40 | 1,75 | 4,00 | 2,00 | 21,00 | 15,50 | 10,00 | 24,00 | 25,00 | 17,00 | 27,50 | 27,00 | 20,00 |
| 60 | 3,25 | 8,00 | 4,00 | 32,50 | 21,00 | 18,00 | 34,00 | 33,00 | 25,00 | 36,50 | 34,00 | 27,50 |
| 80 | — | 11,50 | 5,00 | — | 26,00 | 23,00 | — | 37,00 | 29,00 | — | 39,00 | 33,00 |
| 100 | — | 15,00 | — | — | 30,00 | 28,00 | — | 41,00 | 33,00 | — | 42,00 | 37,00 |
| 110 | — | 17,00 | — | — | 36,00 | — | — | 42,00 | — | — | 44,00 | — |
| 125 | — | — | 25,00 | — | — | 31,00 | — | — | 36,00 | — | — | 40,00 |
| 310 | 45,00 | — | — | 54,00 | — | — | 51,50 | — | — | 50,00 | — | — |
| 380 | — | 31,00 | — | — | 45,00 | — | — | 52,00 | — | — | 55,00 | — |
| 400 | — | — | 41,00 | — | — | 44,00 | — | — | 46,00 | — | — | 49,00 |
| 1100 | 48,00 | 34,00 | 43,00 | 56,00 | 47,00 | 45,00 | 52,00 | — | — | 51,00 | 55,00 | 49,00 |

Aus Tabelle IX ist zunächst zu ersehen, daß in diesem Falle auch bei vertikaler Stellung der Röhrchen zum Teil wesentliche Unterschiede zwischen den venösen und mit Gasen gesättigten Blutproben nachzuweisen sind.

Eben in diesem Falle zeigen sich die Vorteile der Methode (unter verschiedenen Winkeln die Untersuchung auszuführen), denn man sieht dadurch sehr gut, inwieweit die Werte reproduzierbar ausfallen.

Im Oxalatplasma wird die Senkung durch $O_2$ in dem vertikalen Rohre gegenüber dem venösen etwas beschleunigt, in den schiefen Röhren ist diese Wirkung höchstens bei Versuchsbeginn vorhanden, sonst verursacht $O_2$ eine ganz gleichmäßig nachweisbare Verlangsamung der Senkung. $CO_2$ verursacht, von der ersten Ablesung nach 20 Minuten abgesehen, während des Versuches eine Beschleunigung der Senkung, verhält sich also diesbezüglich genau umgekehrt wie beim menschlichen Blute. Im vertikalen Rohre verursacht $CO_2$ eine Beschleunigung gegenüber dem venösen Blute, dagegen sind die Unterschiede bei Schiefstellung nicht konstant.

Im Citratplasma sehen wir schon im vertikalen Rohre ganz kolossale Unterschiede. Im Beginn senkt sich das mit $O_2$ gesättigte Blutkörperchen 40mal schneller als im venösen Blute. Im Citratplasma senken sich die roten Blutkörperchen immer am schnellsten in mit $O_2$ gesättigtem Blute, dann folgt das mit $CO_2$ gesättigte Blut, und am langsamsten senkt sich das venöse.

Das defibrinierte Blut verhält sich dem Oxalatblute ähnlich, mit dem Unterschiede, daß das $CO_2$-Blut sich langsamer senkt als das $O_2$-Blut.

Wir haben dieses Versuchsbeispiel deswegen gewählt, weil hier die $O_2$-Wirkung ausgesprochen zu einer Verlangsamung der Senkung führen kann, während beim Blute *einer Reihe anderer* untersuchter Tiere durch $O_2$ eine *Beschleunigung der Senkung* und durch $CO_2$ *eine Verlangsamung* zu beobachten ist, wie dieses auch, abgesehen vom menschlichen Blute, im weiteren Verlaufe der Versuche nachzuweisen war. Nun ist es aber für unsere weiteren Versuche von prinzipieller Bedeutung, daß wir auch eine Blutart fanden, wo mit mehr minder großer Konstanz eine Verminderung der Senkungsgeschwindigkeit durch $O_2$ nachzuweisen ist, denn nur so konnte die Schüttelwirkung auf die Senkung, welche für den Vergleich von Plasma und Serum von Wichtigkeit ist, systematisch geprüft werden.

In Tabelle X ist ein männliches Hundeblut als ein anderes Versuchsbeispiel angegeben.

Die Sättigung mit $O_2$ verursacht ständig eine Beschleunigung der Senkung gegenüber dem venösen Blute und ebenso gegenüber dem mit $CO_2$ gesättigten. Die $CO_2$-Sättigung verursacht im allgemeinen eine Verlangsamung der Senkung, auch gegenüber dem venösen Blute, welche um so besser nachweisbar ist, je schiefer die Röhrchen gestellt werden.

*Tabelle X.*

Männliches Hundeblut: Oxalatplasma. Freie Plasmahöhen in Millimetern.

| Zeit in Minuten | 90° | | | 67½° | | | 45° | | | 22½° | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | venös | Sättigung | | venös | Sättigung | | venös | Sättigung | | venös | Sättigung | |
| | | $O_2$ | $CO_2$ | | $O_2$ | $CO_2$ | | $O_2$ | $CO_2$ | | $O_2$ | $CO_2$ |
| 20 | 0,50 | 0,50 | 0,25 | 2,50 | 5,50 | 2,00 | 6,50 | 12,00 | 4,00 | 9,00 | 20,00 | 6,00 |
| 40 | 0,75 | 1,00 | 0,75 | 2,50 | 10,00 | 5,00 | 14,00 | 24,00 | 10,00 | 24,00 | 39,00 | 14,00 |
| 65 | 1,25 | 1,75 | 1,00 | 7,00 | 18,00 | 9,00 | 22,00 | 33,00 | 16,00 | 34,00 | 50,00 | 23,00 |
| 80 | 1,25 | 2,00 | 1,00 | 10,00 | 22,00 | 11,50 | 26,50 | 38,00 | 20,00 | 40,00 | 55,00 | 29,00 |
| 100 | 1,50 | 2,00 | 1,50 | 13,00 | 25,00 | 13,50 | 30,50 | 42,00 | 24,50 | 44,00 | 59,00 | 34,00 |
| 120 | 1,50 | 2,50 | 1,75 | 16,00 | 30,00 | 14,50 | 34,00 | 46,00 | 26,00 | 47,00 | 64,00 | 37,00 |
| 840 | 8,00 | 15,00 | 2,25 | 54,00 | 69,00 | 47,00 | 62,00 | 72,00 | 54,00 | 70,00 | 82,00 | 60,00 |
| 3140 | 15,00 | 17,00 | 4,25 | 59,00 | 74,00 | 50,00 | — | 75,00 | 60,00 | 77,00 | 83,00 | 64,00 |

Von besonderem Interesse ist nun bei diesen Versuchen, daß sogar die verwendeten Röhrchen von 2 mm Durchmesser bei der Senkung durch das Blut verstopft werden. Besonders oft haben wir diese Erscheinung bei Plasmaversuchen gesehen, obschon wir mit unter Umständen viel größeren Konzentrationen der gerinnungshemmenden Substanzen gearbeitet haben, als dies sonst üblich und auch notwendig ist; wenn man dabei bedenkt, daß sich bei einer solchen Verstopfung viele Millionen von roten Blutkörperchen zusammenballen, ist es klar, daß ein solcher Vorgang für die Strömung des Blutes in den Kapillaren von großer Bedeutung sein könnte.

Es muß hervorgehoben werden, daß diese Verstopfung in den schiefen Röhren unverhältnismäßig öfter zu beobachten war als in vertikalen Röhren. Dabei kam es öfters dazu, daß Plasma und Blutkörperchensäule manchmal in vier bis fünf Abschnitten nacheinander wechselten. Man kann im allgemeinen sagen, daß bei schnellerer Senkung diese Verstopfung öfter zu beobachten war, insbesondere oft bei Senkungsversuchen in feinen Kapillaren. Kaninchenblut scheint eine besondere Neigung zu dieser Erscheinung zu haben. Auch der Gasgehalt ist von Einfluß, da mit $O_2$ gesättigte Blutproben besonders oft diese Verstopfung zeigen.

Wir können also auch in dieser ständig wechselnden Eigenschaft des Blutes, wie es der Gasgehalt ist, große Differenzen in extremen Fällen nachweisen, wobei diese Erscheinungen nicht vollkommen gleichmäßig ablaufen, so daß noch andere wechselnde Faktoren im Blute verschiedener Tierarten, ja sogar bei verschieden behandelten Blutproben *derselben Tierart* vorhanden sein müssen. Die allgemeine Untersuchung der Gaswirkung mußte vorausgeschickt werden, denn nur so kann man die Veränderungen des Blutes in vitro genauer erforschen.

# Beiträge zur Kenntnis der inneren Sekretion der Keimdrüsen.

## I. Mitteilung:

## Keimdrüsen und Kohlehydratstoffwechsel.

Von

**Shiro Tsubura.**

(Aus der medizinischen Klinik der Universität zu Tokio.)

*(Eingegangen am 9. Oktober 1923.)*

**Inhaltsverzeichnis.**

## Einleitung.

Durch den allbekannten Transplantationsversuch des Hodens an Hähnen hat *Berthold*[1]) zuerst das Vorhandensein der innersekretorischen Funktion des Hodens experimentell bewiesen. Anschließend daran hat *Brown-Séquard*[2]) die Lehre von der inneren Sekretion begründet und den Weg ihrer therapeutischen Anwendung angezeigt.

Darauf folgten viele Arbeiten über die Wirkung der Keimdrüsenhormone. Die bisher konstatierten Wirkungen der genannten Hormone erstreckten sich erstens auf den Geschlechtsapparat selbst, zweitens auf die Bildung sogenannter sekundärer Geschlechtscharaktere, drittens auf das Wachstum des Körpers, und viertens auf den Stoffwechsel. Unter den genannten Wirkungen der Keimdrüsenhormone wurde die Wirkung auf den Stoffwechsel am wenigsten studiert; besonders sind die Versuche über den Kohlehydratstoffwechsel äußerst ungenügend, denn vor der Bekanntgabe der *Bang*schen Mikromethode war die Blutzuckerbestimmung weder einfach noch exakt.

Die ersten Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel nach der Kastration wurden von *Stolper*[3]) im Jahre 1911 bei erwachsenen weiblichen Kaninchen angestellt, mit dem Ergebnis, daß eine alimentäre Glykosurie nach Darreichung einer bestimmten Menge von Traubenzucker bei kastrierten Kaninchen viel leichter eintrat als bei gesunden. In demselben Jahre stellte *Cristofoletti*[4]) interessante Versuche an, die zeigten, daß nach der Kastration Adrenalinglykosurie stärker hervortrat. Diese Tatsache wurde von *Adler*[5]), *Biedl* und *Stolper*[6]) u. a. bestätigt. Im Jahre 1912 teilte *Stolper*[7]) mit, daß bei den partiell pankreotomierten Hunden durch Kastration eine weitere Abschwächung der Zuckerassimilation zustande kam. Im nächsten Jahre konstatierte er[8]) ferner eine leichter auslösbare alimentäre Glykosurie, sogar auch spontane Glykosurie, sowohl bei den ovariotomierten Frauen, als auch bei den Frauen im Klimakterium, bei denjenigen mit Myom und in der Gravidität. Die Herabsetzung der Assimilationsgrenze für Zucker ist nach ihm besonders auffallend bei Hyperemesis gravidarum. Im Jahre 1917 untersuchten *Ogushi* und *Tomita*[9]) an Kaninchen die geschlechtliche Verschiedenheit bei der Adrenalinglykosurie und stellten fest, daß nach der Geschlechtsreife, besonders bei den brünstigen Weibchen der Grad der Adrenalinglykosurie vermindert, mit der Schwangerschaft leicht und nach der Kastration bedeutend gesteigert sei, jedoch bei Männchen keine solche Veränderung vorkomme, während vor der Geschlechtsreife kein Unterschied zwischen Männchen und Weibchen nachweisbar sei. Sie[10]) publizierten in demselben Jahre weitere Untersuchungen über den

[1]) *Berthold*, Arch. f. Anat. u. Physiol., 1849, S. 42.
[2]) *Brown-Séquard*, C. r. d. l. soc. d. biol., 1889, S. 415, 420, 430 und 451.
[3]) *Stolper*, Zentralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffw. **6**, Nr. 21, 1911.
[4]) *Cristofoletti*, Gynäk. Rundschau **5**, 1911.
[5]) *Adler*, Arch. f. Gynäk. **95**, 349, 1911.
[6]) *Biedl*, Innere Sekretion, 1916.
[7]) *Stolper*, Gynäk. Rundsch. **6**, 1912.
[8]) *Derselbe*, ebendaselbst **7**, 1913.
[9]) *Ogushi* und *Tomita*, Mitt. d. med. Gesellsch. zu Osaka **16**, H. 1, 1917.
[10]) *Dieselben*, ebendaselbst **16**, H. 9, 1917.

geschlechtlichen Unterschied in bezug auf den Zuckerhaushalt bei Kaninchen und konstatierten, daß beim Weibchen die Zuckertoleranz sich in der Brunst erhöht, während es sich am Schwangerschaftsende und nach der Kastration ziemlich hochgradig vermindere, beim Männchen nach der Kastration dagegen sich erhöhe.

Seit einigen Jahren sind vielfach Untersuchungen über den Blutzucker vorgenommen worden, am häufigsten mit der Mikromethode von *Ivar Bang*.

Im Jahre 1919 teilten *Guggisberg* und *Baillod*[1]) mit, daß bei gesunden Frauen eine subkutane Injektion von 0,1 ccm einer 1 prom. Adrenalinlösung keine merkliche Hyperglykämie hervorrufe, während bei ovariotomierten Frauen eine bedeutende Hyperglykämie verursacht würde, wie sie auch experimentell bei kastrierten Kaninchen nachgewiesen worden ist. Die genannten Autoren vermuteten, daß diese Erscheinung von dem durch die Kastration veränderten Sympathicotonus abhängig sei.

Die bisherigen Untersuchungen waren meist auf das Ovarium gerichtet, während der Hoden als ein in dieser Beziehung indifferentes Organ angesehen wurde. So sprach sogar *Sajous*[2]) die Vermutung aus, daß der Hoden kein eigentliches Hormon produziere, sondern daß der innersekretorische Anteil des Hodens ein aberriertes Adrenalsystem sei.

Der Zweck meiner vorliegenden Untersuchungen ist also vor allem eine Feststellung der diesbezüglichen Bedeutung des Hodens im Vergleich zu dem Ovarium und die Ausfüllung der Lücken. Überhaupt vermißt man ein eingehendes Studium über den Kohlehydratstoffwechsel nach der Kastration.

Die Veröffentlichung der *Steinach*schen Verjüngungslehre[3]) erweckte ein lebhaftes Interesse nicht nur in medizinischen Kreisen, sondern auch in der Laienwelt. Ob man die innersekretorische Funktion des Hodens ausschließlich den *Leydig*schen Zwischenzellen (sogenannte Pubertätsdrüse nach *Steinach*) zuschreiben darf oder ob sie von dem spermatogenen Gewebe abhängig sein soll, wird neuerdings vielfach diskutiert, ohne daß bis jetzt ein abschließendes Resultat erzielt ist.

Bekanntlich degeneriert das spermatogene Gewebe nach der Samenstrangunterbindung, während die *Leydig*schen und *Sertoli*schen Zellen immer widerstandsfähig fortbestehen oder sogar hypertrophieren. Es bestehen noch keine Untersuchungen darüber, welche Wirkungen die *Steinach*sche Operation (Samenstrangunterbindung) auf den Kohlehydratstoffwechsel ausübt. Es wäre also von Bedeutung, die *Steinach*sche Lehre durch Studien über den Stoffwechsel außerhalb der Geschlechtssphäre zu ergänzen. Wenn die *Steinach*sche Operation tatsächlich den alternden Organismus verjüngt, so kann man mit Recht eine Steigerung der Stoff-

---

[1]) *Guggisberg*, Zentralbl. f. Gynäk., Nr. 28, 1919; *Baillod*, zitiert nach *Guggisberg*.

[2]) *Sajous*, New York med. Journ. 4, Sept. 1909; zitiert nach Internal secretion and principles of med. Vol. 7. edition.

[3]) *Steinach*, Verjüngung durch experimentelle Neubelebung der alternden Pubertätsdrüse. Berlin 1920.

wechselvorgänge erwarten. Wie verhält sich nun der Organismus in bezug auf den Stoffwechsel nach einer Röntgenbestrahlung des Hodens, welche ausschließlich das spermatogene Gewebe beeinträchtigt?

Angenommen, daß das spermatogene Gewebe keinen Einfluß auf den Organismus ausübe, so würde man keine Veränderung des Stoffwechsels erwarten.

Meine vorliegenden Ergebnisse stehen im Gegensatz zu dieser Annahme.

Es dürfte auch nicht unberücksichtigt gelassen werden, daß nahe Beziehungen zwischen dem Kohlehydratstoffwechsel und den Funktionen des Pankreas und der Nebenniere, der Schilddrüse sowie der Hypophyse vorhanden sind. Daß die Keimdrüsen mit anderen endokrinen Drüsen in inniger Beziehung stehen, wurde vielfach histologisch bestätigt durch eine Hypertrophie der Nebennierenrinde, eine Vergrößerung der Hypophyse und Thymus, eine Atrophie (Hypertrophie?) der Schilddrüse usw., Erscheinungen, die alle nach der Kastration hervortreten. Es existieren nur wenige exakte Untersuchungen über die Beziehungen der Keimdrüsen zum Kohlehydratstoffwechsel in bezug auf andere endokrine Drüsen, die einen bestimmten Einfluß darauf erkennen lassen. Es interessierte uns daher sehr, die Untersuchungen weiterzuführen.

Wie bekannt, stehen die Keimdrüsen embryologisch zu den Nieren in Beziehung. Es ist daher denkbar, daß auch im postfötalen Leben eine korrelative Beziehung zwischen den Funktionen beider Organe vorhanden ist. Daß die Nieren in der Schwangerschaft für Zucker abnorm durchlässig sind, wurde klinisch sowie experimentell von vielen Forschern (*v. Noorden*, *Porges*, *Frank*, *Mann*, *Ryser*, *Guggisberg*, *Novak* u. a.) bestätigt, obwohl das Wesen der Schwangerschaftsglykosurie zurzeit noch nicht lediglich als Folge der Veränderung der Nierendichtigkeit betrachtet werden darf[1]). Während der Schwangerschaft kommen bekanntlich die verschiedenen Zeichen der Hypofunktion des Ovariums vor, und es wäre daher ein Zusammenhang zwischen den Funktionen der Ovarien und der Nieren nicht abzuweisen. Setzt man einen gewissen Einfluß des Keimdrüsenhormons auf die Nierenfunktion voraus, so muß andererseits nach der Kastration eine bestimmte Veränderung der Nierenfunktion verursacht werden, welche ich auch nach einer Hodenexstirpation beweisen konnte[2]).

## I. Untersuchungen über den Blutzuckergehalt bei normalen und bei kastrierten Kaninchen.

Es gibt noch keine systematische Untersuchungen über den Blutzuckergehalt nach der Kastration.

Da die Störung des Stoffwechsels nach *Loewy* und *Richter*[3]) erst nach einigen Wochen eintreten soll, muß die diesbezügliche Untersuchung lange

---

[1]) *v. Noorden*, Zuckerkrankh. 1917.

[2]) Die Ergebnisse meiner diesbezüglichen Versuche wurden am 1. April 1921 in der 18. Sitzung des Japanischen Kongresses für innere Medizin in Tokio und am 2. April 1922 in der 19. Sitzung desselben Kongresses in Kyoto vorgetragen.

[3]) *Loewy* und *Richter*, Arch. f. Physiol., Suppl. B., 1899.

Zeit nach der Kastration fortgesetzt werden. Bei meiner vorliegenden Untersuchung benutzte ich als Versuchstiere immer Kaninchen. Sie wurden mit 300 bis 400 g Bohnenquarktreber und etwa 50 g Gemüse als Tagesmenge gefüttert. Die Blutentnahme erfolgte morgens in nüchternem Zustande aus Ohrvenen unter möglichster Vermeidung von Gewalt. Der Blutzucker wurde mittels der *Bang-Imamura*schen Mikromethode[1]) bestimmt.

Die Orcheotomie wurde unter aseptischen Kautelen ohne Narkose ausgeführt, während die Ovariotomie unter Äthernarkose durch Laparotomie gemacht wurde. Die Kaninchen vertragen diese Operation recht gut. Kurz nach der Orcheotomie zeigten die Kaninchen keine merkliche Veränderung. Nach Verlauf von einigen Monaten wurde der Penis blasser, der Penisschaft atrophisch, infolgedessen wurde das Orificium urethrae sehr weit und ähnelte der Vulva des weiblichen Kaninchens. Die Zunahme des Körpergewichts bei den kastrierten Kaninchen scheint größer als bei den normalen Kontrolltieren.

### *Versuch 1.*

Der Blutzuckergehalt wurde bei 15 normalen Kaninchen (Körpergewicht von 1600 bis 2300 g) bestimmt, der gefundene Wert betrug **0,07** bis **0,12 Proz.;** durchschnittlich **0,095 Proz.**

Bei zehn normalen weiblichen Kaninchen (Körpergewicht von 1800 bis 2300 g) betrug der Wert **0,07** bis **0,12 Proz.,** durchschnittlich **0,097 Proz.**

Dies stimmt mit der Angabe *Bangs* und den Resultaten vieler anderer Autoren überein, die mittels *Bang*scher Methode arbeiteten.

### *Blutzuckergehalt bei kastrierten Kaninchen.*

Die Kaninchen waren zur Zeit der Kastration etwa 6 Monate alt, das Körpergewicht betrug 1600 bis 2000 g; sie zeigten zeitweise schon Brunsterscheinungen. Die Blutzuckerbestimmung wurde erst einige Wochen nach der Kastration gemacht. Natürlich wurden alle kastrierten Kaninchen unter ganz denselben Bedingungen wie die Kontrolltiere beobachtet. Der Blutzuckerwert der 15 kastrierten Männchen mit einem Körpergewicht von 1700 bis 2000 g betrug nüchtern 0,07 bis 0,12 Proz., durchschnittlich **0,096 Proz.,** dagegen bei zehn kastrierten Weibchen mit einem Körpergewicht von 1800 bis 2200 g **0,08** bis **0,12 Proz.,** durchschnittlich **0,105 Proz.**

### *Blutzuckergehalt vor und nach der Kastration bei denselben Kaninchen.*

Die Tagesschwankung des Blutzuckerwertes bei Kaninchen liegt nach *Oppler* und *Rona*[2]) zwischen 0,01 bis 0,13 Proz., nach *Bang*[3]) bei nur etwa 0,01 Proz. Die tägliche Schwankung des Blutzuckers bei demselben Kaninchen kann sehr gering sein, wenn man sich bemüht, einen alimentären Einfluß und ein Erschrecken der Tiere sorgfältig zu vermeiden. Ich bebestimmte bei fünf Kaninchen den Blutzuckergehalt vor und nach der Kastration mehrere Monate lang in bestimmten Intervallen.

---

[1]) *Bang*, Der Blutzucker, 1913; *Imamura*, The Iji-Shinbun, Nr. 957, S. 1153; Nr. 1017 und The Chû-gai Iji-Shimpô, Nr. 935.

[2]) *Oppler* und *Rona*, diese Zeitschr. **13**, 120, 1908.

[3]) *Bang*, l. c.

*Tabelle I.*

| Kaninchen Nr. | Blutzuckergehalt, Prozente vor der Kastration | nach der Kastration |
|---|---|---|
| I. (♂) schwarz . . | 0,113, 0,113, 0,108, 0,108 0,090 | 0,102 (2), 0,097 (7), 0,085 (24), 0,089 (32) |
| II. (♂) braun . . . | 0,091, 0,078, 0,082, 0,099 | 0,112 (3), 0,092 (6), 0,102 (15), 0,105 (22) |
| III. (♂) schwarz . . | 0,105, 0,110, 0,092 | 0,105 (22), 0,110 (31), 0,098 (49), 0,075 (51), 0,104 (272) |
| IV. (♂) gefleckt . . | 0,102, 0,075, 0,085, 0,087 | 0,095 (23), 0,100 (37), 0,097 (42) |
| V. (♀) weiß . . . . | 0,103, 0,104 | 0,103 (1), 0,113 (3), 0,100 (24) |
| Durchschnitt . . . . | **0,097** | **0,099** |

(Zahlen in der Klammer zeigen die Tage nach der Kastration.)

Faßt man das gesamte Resultat vorliegender Untersuchungen zusammen, so gelangt man zu folgendem Schlusse:

Der Nüchternwert des Blutzuckers erfährt durch die Kastration keine Veränderungen sowohl beim männlichen als auch beim weiblichen Kaninchen. Daraus ergibt sich, daß die Keimdrüsen nicht imstande sind, irgend eine Wirkung auf die Blutzuckerregulation in der Nüchternzeit auszuüben.

### II. Einfluß der Kastration auf die alimentäre Hyperglykämie und Glykosurie bei Kaninchen.

Es ist von großem Interesse und auch von hoher Bedeutung, bei der Untersuchung des Kohlehydratstoffwechsels das Schicksal des eingeführten Traubenzuckers weiter zu verfolgen. Dabei wurde in erster Linie die Assimilationsgrenze bestimmt.

Die ersten Untersuchungen über die Assimilationsgrenze des Traubenzuckers nach der Kastration führte *Stolper*[1]) aus, er fand dabei eine Herabsetzung der Toleranz. *Ogushi* und *Tomita*[2]) konnten die Resultate *Stolpers* bestätigen und wiesen nach, daß die kastrierten Männchen im Gegensatz zu den weiblichen eine erhöhte Assimilationsgrenze für Zucker zeigen.

Der vom Darmtraktus resorbierte Zucker wird größtenteils in der Leber zurückgehalten und dort assimiliert, während ein kleinerer Teil in das zirkulierende Blut übergeht. Bei gestörter Assimilation der Leber tritt die alimentäre Hyperglykämie bzw. Glykosurie hochgradig auf, und somit gibt eine systematische Blutuntersuchung nach der Zuckerzufuhr einen gewissen Anhaltspunkt über die Zuckerassimilation der Leber. Obschon der Grad der alimentären Hyperglykämie nach der Zuckerzufuhr vornehmlich von der Assimilationstätigkeit der Leber, zum Teil aber auch

[1]) und [2]) l. c.

von der der Muskeln abhängig ist, kann man jedoch eine Verbrennung (weitere Spaltung) des im Blut übernormal vorhandenen Zuckers nicht unberücksichtigt lassen, weil durch stomachale oder parenterale Zuckerzufuhr das Ansteigen des respiratorischen Quotienten, d. h. eine Verbrennung des Zuckers, nachgewiesen ist [*Zuntz* und *Mehring*, *Volpers*, *Magnus-Levy*, *Johanson*, *During*, *Wilenko* u. a.[1])].

Eine stark auftretende alimentäre Hyperglykämie bei den kastrierten Tieren im Vergleiche zu den Kontrolltieren wurde größtenteils als Folge einer herabgesetzten Zuckerassimilation betrachtet. Bei der Untersuchung der Zuckerassimilation allein mittels der Harnzuckerbestimmung ist es, wie bei den bisherigen Untersuchungen, nur in beschränktem Maße möglich, Schlußfolgerungen über das Assimilationsvermögen zu ziehen. Dazu ist eine Serienuntersuchung des Blutzuckers nötig.

*Versuchsanordnung meiner Untersuchung.*

Als Versuchstiere wurden immer Kaninchen benutzt, welche einige Tage lang mit der bestimmten Menge von Bohnenquarktreber und Gemüse gefüttert worden waren. Beim Versuche wurden morgens in nüchternem Zustande (12 bis 20 Stunden nach der Fütterung) etwa 5,0 bis 10,0 g pro Kilogramm reinen Traubenzuckers als 20proz. Lösung mittels Sonde in den Magen eingeführt. Es wurde der Blutzucker nach *Bang-Imamura* bestimmt und der Harn nach der Einführung des Zuckers in geteilten Portionen katheterisiert, um 24stündigen Harn qualitativ nach *Nylander* bzw. *Trommer*, quantitativ nach *Pavy-Kumagawa-Suto*[2]) zu bestimmen.

## A. Kontrollversuch bei normalen Kaninchen.

Systematische Untersuchungen über die alimentäre Glykämie bei Kaninchen sind erst von *Bang*[3]) mittels seiner Mikromethode angestellt worden. Aus seinen Versuchen geht hervor, daß schon 15 Minuten nach der Zuckerzufuhr eine schwache Blutzuckersteigerung auftritt, um nach 1 bis 1½ Stunden ihr Maximum zu erreichen, das dann kurze Zeit konstant bleibt, um dann wieder schnell zu sinken. Zwischen den normalen und den hungernden Tieren fand er deutliche Unterschiede, indem bei den letzteren die absolute Höhe des Blutzuckers etwas größer als bei den ersteren war; dabei verhielt sich ein Kaninchen von eintägigem Hunger wie ein gut genährtes Kaninchen. Beim Kaninchen ist die Assimilationsgrenze für Traubenzucker beträchtlich hoch, und nach *Bang* liegt dieselbe höher als 5,0 bis 10,0 g pro Kilogramm.

Um eine alimentäre Glykosurie bei Kaninchen zu erzielen, ist eine große Menge von Traubenzucker notwendig, jedoch ist eine so große Menge wie mehr als 20,0 g für Kaninchen durchaus nicht

[1]) Siehe Ergebnisse d. Physiol., 1. Jahrg., 1. Abt., 1903; *Jaquet*, Der respiratorische Gaswechsel; *Wilenko*, diese Zeitschr. **42**, 1912.

[2]) *Kumagawa* und *Suto*, Mitt. d. med. Gesellsch. zu Tokio **20**, Nr. 9.

[3]) *Bang*, l. c.

belanglos, weil die Kaninchen dabei häufig mit heftiger Diarrhöe reagieren. Es ist daher nicht einwandfrei nach einer Darreichung von so großen Mengen Traubenzucker die Zuckerassimilation zu untersuchen, wie *Stolper* ausgeführt hat.

Auch sei hier bemerkt, daß die Konzentration des Traubenzuckers einen gewissen Einfluß auf die alimentäre Hyperglykämie ausübt, indem sie bei konzentrierterer Lösung höher ist. Ich wandte deshalb immer eine 20proz. Lösung an.

*Versuch 2.*

Unter den erwähnten Vorsichtsmaßregeln wurden die Blut- und Harnzuckerbestimmungen bei zehn normalen Kaninchen nach einer Fütterung von 10 bis 20 g Traubenzucker per Kopf vorgenommen, wie folgende Tabelle zeigt:

*Tabelle II.*

| Versuchsnummer | 1 (♂) | 2 (♂) | 3 (♂) | 4 (♀) | 5 (♂) | 6 (♂) | 7 (♂) | 8 (♂) | 9*) (♂) | 10 (♀) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 2050 | 2300 | 2100 | 1660 | 2010 | 2350 | 2270 | 2000 | 2110 | 1780 |
| Zimmertemp. (°C) | 13 | 14 | 15 | 25 | 16 | 13 | 13 | 15 | 14 | 25 |
| Eingeführte Zuckermenge | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 16,6 | 10,0 | 20,0 | 20,0 | 10,0 | 10,0 | 17,8 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.)** | | | | | | | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,075 | 0,088 | 0,113 | 0,094 | 0,100 | 0,072 | 0,092 | 0,091 | 0,105 | 0,099 |
| 1 Std. nach der Zuckerzufuhr | 0,146 | 0,160 | 0,144 | 0,176 | 0,177 | 0,175 | 0,180 | 0,196 | 0,232 | 0,240 |
| 2 ,, | 0,138 | 0,127 | 0,146 | 0,193 | 0,165 | 0,236 | 0,171 | 0,188 | 0,266 | 0,276 |
| 3 ,, | 0,116 | 0,126 | 0,139 | 0,178 | 0,152 | 0,195 | 0,160 | 0,215 | 0,246 | 0,195 |
| 4 ,, | — | — | 0,131 | 0,155 | — | 0,150 | 0,149 | — | 0,220 | 0,239 |
| 5 ,, | — | — | — | — | — | — | — | — | 0,117 | — |
| 6 ,, | 0,079 | 0,080 | — | — | — | 0,092 | 0,100 | 0,087 | 0,101 | — |
| **Zuckerreaktion des Harns.** | | | | | | | | | | |
| Vor d. Zuckerzufuhr | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) |
| Nach d. ,, | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (++) | (—) |

*) Bei Kaninchen Nr. 9 wurde eine ausgedehnte Lebercoccidose gefunden.

Diese Resultate stimmen ungefähr mit der Angabe *Bangs* sowie der anderer Autoren überein. Man kann also aus diesen Resultaten schließen, daß bei gesunden Kaninchen die Assimilationsgrenze mehr als 5,0 bis 10,0 g pro Kilogramm betrug, wobei der maximale Blutzuckerwert kaum 0,25 Proz. überschreitet.

## B. Versuche bei kastrierten Kaninchen.

Ich habe zunächst bei zehn kastrierten Kaninchen dieselben Versuche wie bei den normalen ausgeführt, nachdem einige Wochen nach der Kastration verstrichen waren. Die kastrierten Kaninchen wurden natürlich unter denselben Bedingungen untersucht wie die Kontrolltiere.

*Tabelle III.*

| Versuchsnummer . . . | 1 (♂) | 2 (♂) | 3 (♂) | 4 (♂) | 5 (♂) | 6 (♀) | 7 (♂) | 8 (♂) | 9 (♀) | 10 (♂) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) . . | 2080 | 2120 | 2170 | 2300 | 2250 | 2400 | 2250 | 2140 | 2240 | 2080 |
| Zimmertemp. ($^0$C) . . | 16 | 15 | 14 | 14 | 14 | 13 | 15 | 26 | 20 | 25 |
| Tage n. d. Kastration | 22 | 22 | 21 | 17 | 18 | 30 | 44 | 25 | 56 | 29 |
| Eingef. Zuckermenge (g) | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 12,0 | 10,0 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.)** | | | | | | | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,105 | 0,088 | 0,094 | 0,120 | 0,099 | 0,109 | 0,101 | 0,097 | 0,102 | 0,092 |
| 1 Std. nach der Zuckerzufuhr | 0,230 | 0,194 | 0,205 | 0,221 | 0,197 | 0,250 | 0,216 | 0,196 | 0,252 | 0,148 |
| 2 „ | 0,280 | 0,176 | 0,254 | 0,251 | 0,282 | 0,241 | 0,227 | 0,230 | 0,289 | 0,212 |
| 3 „ | 0,190 | 0,216 | 0,233 | 0,285 | 0,156 | 0,196 | — | 0,170 | 0,221 | 0,209 |
| 4 „ | 0,209 | 0,188 | 0,155 | 0,231 | — | 0,130 | 0,187 | — | 0,121 | — |
| 5 „ | 0,133 | — | — | 0,131 | — | — | — | — | — | — |
| 6 „ | 0,095 | 0,100 | 0,137 | — | — | 0,110 | 0,151 | — | — | — |
| **Zucker im Harn.** | | | | | | | | | | |
| Vor der Zuckerzufuhr | (±) | (±) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) |
| Nach der „ | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) | (+) | (+++) | (—) | (+++) | (—) |
| Ausgeschied. Zuckermenge (g) . . . . | 0,6 | — | — | 0,3 | — | — | 0,8 | — | 0,33 | — |

Aus dieser Tabelle ist leicht zu ersehen, daß bei den kastrierten Kaninchen unter gleichen Bedingungen die alimentäre Hyperglykämie weit hochgradiger auftritt als bei den Kontrolltieren. Eine Zufuhr von etwa 5 g Traubenzucker pro Kilogramm Körpergewicht, welche bei gesunden Kaninchen niemals Glykosurie hervorruft, verursachte bei den kastrierten eine deutliche Glykosurie, die durch die stärker auftretende Hyperglykämie bedingt ist. Die Herabsetzung der Assimilationsgrenze für Traubenzucker kam sowohl bei den kastrierten Weibchen als auch bei den Männchen zustande. Die Herabsetzung der Zuckertoleranz nach der Kastration kam bei acht kastrierten Weibchen ausnahmslos zustande, während nur drei Kaninchen unter 24 männlichen Kastraten keine Herabsetzung der Toleranz zeigten. Bei kastrierten Weibchen stimmen meine Resultate mit denen von *Taya*[1]), *Stolper*[2]), sowie *Ogushi* und *Tomita*[3]) überein, während die Resultate bei kastrierten Männchen zu den Resultaten von *Ogushi* und *Tomita* in starkem Gegensatz stehen. Letztere wiesen eher eine erhöhte Toleranz bei den männlichen Kastraten nach.

### C. Beginn und Dauer der Herabsetzung der Zuckertoleranz nach der Kastration.

Nach *Loewy* und *Richter*[4]) kommt eine Verminderung des Gesamtstoffwechsels nicht sogleich nach der Kastration zustande, sondern wird

---

[1]) *Taya*, Nippon Fujinka-gakkai-zashi **15**, Nr. 5, 1920.
[2]) und [3]) l. c.
[4]) *Loewy* und *Richter*, l. c.

erst nach einigen Wochen deutlich und dauert lange Zeit hindurch an. Um das Verhalten der Zuckerassimilation nach der Kastration zu verfolgen und die analoge Erscheinung wie bei den Gaswechselversuchen zu konstatieren, stellte ich folgende Versuche an (alle Bedingungen sind die gleichen wie bei den vorigen Versuchen):

*Tabelle IV.*

| Kaninchen Nr. | 9 (♂) | | | | 11 (♂) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tage nach der Kastration | 3 | 15 | 22 | 30 | v. d. Kastr. | 13 | 22 |
| Körpergewicht (g) | 2070 | 2100 | 2080 | 2110 | 2300 | 2350 | 2120 |
| Zimmertemperatur (° C) | 15 | 15 | 16 | 15 | 14 | 14 | 15 |
| Eingeführte Zuckermenge (g) | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| | Blutzuckergehalt (Proz.) | | | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,112 | 0,103 | 0,105 | 0,106 | 0,088 | 0,094 | 0,088 |
| 1 Std. n. d. Zuckerzufuhr | 0,216 | 0,170 | 0,230 | 0,246 | **0,160** | 0,154 | 0,194 |
| 2 „ „ „ „ | **0,225** | 0,204 | **0,280** | **0,279** | 0,127 | **0,158** | 0,176 |
| 3 „ „ „ „ | 0,198 | **0,224** | 0,190 | 0,220 | 0,126 | 0,125 | **0,216** |
| 4 „ „ „ „ | 0,116 | 0,189 | 0,209 | 0,194 | 0,126 | 0,125 | 0,188 |
| 5 „ „ „ „ | — | — | 0,133 | 0,150 | — | — | — |
| 6 „ „ „ „ | 0,092 | 0,097 | 0,095 | 0,080 | — | — | 0,100 |
| | Zuckerreaktion des Harns. | | | | | | |
| Vor der Zuckerzufuhr | (—) | (—) | (±) | (—) | (—) | (—) | (±) |
| Nach „ „ | (—) | (±) | (+++) | (+++) | (—) | (—) | (+++) |

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß die alimentäre Hyperglykämie schon einige Tage nach der Kastration stärker als bei den gesunden Kaninchen auftritt und immer deutlicher wird. Die maximale Herabsetzung der Zuckertoleranz wird ungefähr nach 3 Wochen erreicht. Was die Dauer der Herabsetzung der Zuckertoleranz nach der Kastration anbetrifft, so konnte ich beweisen, daß sie sehr lange anhält. Die nächste Tabelle weist die diesbezügliche Beziehung ganz klar nach.

*Tabelle V.*

| Kaninchen Nr. | 1 (♀) | | 12 (♂) | 8 (♂) | 25 (♂) |
|---|---|---|---|---|---|
| Tage nach der Kastration | 164 | 253 | 68 | 69 | 227 |
| Körpergewicht (g) | 2430 | 2400 | 2100 | 1800 | 2650 |
| Zimmertemperatur (° C) | 13 | 22 | 16 | 14 | 27 |
| Eingef. Zuckermenge pro kg (g) | 4,1 | 5,0 | 4,8 | 5,5 | 5,7 |
| | Blutzuckergehalt (Proz.) | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,107 | 0,104 | 0,105 | 0,099 | 0,104 |
| 1 Std. n. d. Zuckerzufuhr | **0,249** | 0,235 | 0,231 | 0,196 | 0,203 |
| 2 „ „ „ „ | 0,238 | 0,293 | 0,244 | **0,244** | 0,219 |
| 3 „ „ „ „ | 0,186 | **0,313** | **0,248** | 0,206 | **0,232** |
| 4 „ „ „ „ | 0,126 | — | — | 0,133 | 0,165 |
| 5 „ „ „ „ | — | — | 0,126 | — | — |
| 6 „ „ „ „ | 0,116 | — | — | 0,093 | 0,100 |
| | Zuckerreaktion des Harns. | | | | |
| Vor der Zuckerzufuhr | (—) | (—) | (±) | (—) | (—) |
| Nach „ „ | (+) | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) |

Faßt man das Resultat der obigen Versuche zusammen, so kann man folgendes sagen:

**Nach der Kastration kam meistenteils sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Kaninchen eine Herabsetzung der Zuckertoleranz zustande. Diese Erscheinung trat nicht gleich nach der Kastration manifest auf, sondern sie wurde allmählich deutlicher und war erst nach etwa 3 Wochen voll ausgebildet. Diese Herabsetzung der Zuckertoleranz nach der Kastration dauerte monate-, sogar jahrelang an. Dieser Einfluß der Keimdrüsen ist geschlechtsunspezifisch.**

## III. Einfluß der Samenstrangunterbindung auf die Zuckertoleranz bei Kaninchen.

Eine Frage blieb zunächst noch offen; aus welchen Gewebsteilen nämlich das angenommene Keimdrüsenhormon produziert wird.

Daß das Keimdrüsenhormon in den *Leydig*schen Zwischenzellen produziert wird, wurde von vielen Forschern [*Bouin* und *Ancel*[1]), *Steinach*[2]), *Tandler* und *Gross*[3]), *Sand*[4]), *Lipschütz*[5]) u. a.] behauptet. Doch wurde dies vielfach bestritten [*Kyrle*[6]), *Stieve*[7]), *Kohn*[8]), *Tiedje*[9]), *Fiebiger*[10]) u. a.]. Zur Isolierung der hormonbildenden Gewebselemente führten zuerst *Bouin* und *Ancel* geistreiche Versuche aus, indem sie bei Kaninchen einseitig den Hoden kastrierten und gleichzeitig eine Ligatur des Ductus deferens der anderen Seite vornahmen, in der Erwartung, hierbei eine kompensatorische Hypertrophie derjenigen Elemente zu erzielen, denen die Aufgabe der inneren Sekretion zukommt. Sie wiesen dabei nach, daß etwa ein halbes Jahr nach dieser Operation der zurückgelassene Hoden stark verkleinert erschien und die Samenkanälchen noch einige Spermatogonien und veränderte *Sertoli*-Zellen enthielten, während sich *Leydig*sche Zellen mächtig entwickelten und sekretorische Aktivitätssteigerung aufwiesen. Nach 10 bis 12 Monaten schrumpften die Samenkanälchen, die *Sertori*-Zellen degene-

---

[1]) *Bouin* und *Ancel*, ihre vielen Arbeiten wurden zitiert in *Biedl*, Innere Sekretion 1916.

[2]) *Steinach*, zitiert nach *Biedl*, Anzeig. d. Wien. Akad., Nr. 12, 1916; Arch. f. Entwickelungsmech. **42**, 307, 1916; Anzeig. d. Wien. Akad., Nr. 11, 1919; Verjüngung durch exper. Neubelebung d. altern. Pubertätsdr., Berlin 1920.

[3]) *Tandler* und *Gross*, Die biol. Grundlagen d. sek. Geschlechtscharakt., 1913.

[4]) *Sand*, Zeitschr. f. Sexualwiss. **7**, H. 6, 1920, Ungeskrift f. laeger, 83. Jg. Nr. 46, 1921 und Journ. d. physiol. et d. path. gén. **119**, Nr. 4, S. 494, 1921 (zitiert nach Kongr. z. bl. **24**, H. 1, 1922).

[5]) *Lipschütz*, C. r. d. l. soc. d. biol. **85**, 42, 1921; ebendaselbst, S. 88, 1921; ebendaselbst **86**, Nr. 6, S. 306, 1922.

[6]) *Kyrle*, zitiert nach *Biedl*.

[7]) *Stieve*, Naturwiss., 8. Jahrg., H. 46, S. 895 und Berichte über ges. Physiol. **7**, H. 9, 1921.

[8]) *Kohn*, Boux' Arch. f. Entwicklungsmech. **47**, H. 1—2, 1920.

[9]) *Tiedje*, Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 13, 1921.

[10]) *Fiebiger*. Wien. klin. Wochenschr. 71. Jg., Nr. 44, S. 188, 1921.

rierten und der ganze Hoden bestand fast allein aus den stark hyperplasierten interstitiellen Zellen, wobei keinerlei Kastrationszeichen bemerkt wurden. Vorausgesetzt, daß diese Resultate richtig sind, könnte man durch diese Operation einen Einfluß der *Leydig*schen Zellen auf den Kohlehydratstoffwechsel nachweisen.

Ich habe bei geschlechtsreifen Kaninchen einseitig den Hoden extirpiert und auf der anderen Seite den Samenstrang zwischen Hoden und Nebenhoden ligiert. Bei der Operation wurde eine Gefäßschädigung sorgfältig vermieden. Die operierten Kaninchen wurden unter denselben Bedingungen wie bei den vorigen Versuchen untersucht.

*Versuch III.*

Der Hoden einerseits kastriert und der Samenstrang auf der anderen Seite ligiert.

*Tabelle VI.* Kaninchen Nr. 30, weiß.

| | Vor der Operation | 28 Tage nach der Operation |
|---|---|---|
| Körpergewicht . . . . . . . . . | 2050 | 2100 |
| Oral eingef. Zuckermenge (g) | 10,0 | 10,0 |
| Blutzuckergehalt (Proz.) | | |
| Präform. Blutzucker . | 0,101 | 0,112 |
| 1 Std. nach der Einfuhr | 0,147 | 0,205 |
| 2 „ „ „ „ | 0,184 | 0,199 |
| 3 „ „ „ „ | 0,162 | 0,155 |
| 4 „ „ „ „ | 0,129 | 0,117 |
| 5 „ „ „ „ | 0,109 | 0,117 |
| 6 „ „ „ „ | — | 0,119 |
| Zuckerreaktion im Harn nach Zuckerzufuhr. | (—) | (—) |

Aus diesem Resultat geht hervor, daß schon 4 Wochen nach der erwähnten Operation die alimentäre Hyperglykämie etwas stärker als vor der Operation war. Lange Zeit nach dieser Operation kommt trotzdem die Herabsetzung der Zuckertoleranz ebenso auffallend zustande wie nach der Kastration.

*Tabelle VII.* Kaninchen Nr. 50, hasenartig.

| | | |
|---|---|---|
| Tage nach der Operation . . . | 35 | 100 |
| Körpergewicht (g) . . . . . . | 1755 | 1970 |
| Oral eingef. Zuckermenge pro kg | 5,0 | 5,0 |
| Blutzuckergehalt (Proz.) | | |
| Präform. Blutzucker . | 0,110 | 0,113 |
| 1 Std. nach der Zufuhr | 0,189 | 0,239 |
| 2 „ „ „ „ | 0,191 | 0,248 |
| 3 „ „ „ „ | 0,192 | 0,238 |
| 4 „ „ „ „ | 0,105 | 0,119 |
| 5 „ „ „ „ | — | 0,096 |
| 6 „ „ „ „ | — | 0,082 |
| Zuckerreaktion im Harn nach Zuckerzufuhr. | (±) | (+++) |

Die gleichzeitige Unterbindung der Gefäße bei der Operation führt rascher zu der Herabsetzung der Zuckertoleranz, wie der folgende Versuch zeigt.

*Tabelle VIII.*

Hoden einseitig kastriert und auf der anderen Seite Samenstrang mit zuführenden Gefäßen unterbunden.
Kaninchen Nr. 51, hasenartig.

| | | |
|---|---|---|
| Tage nach der Operation | 35 | 100 |
| Körpergewicht (g) | 1930 | 2080 |
| Oral eingeführte Zuckermenge pro kg (g) | 5,0 | 5,0 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.)** | | |
| Präform. Blutzucker | 0,095 | 0,085 |
| 1 Std. nach der Zufuhr | 0,213 | **0,287** |
| 2 " " " " | **0,265** | 0,229 |
| 3 " " " " | 0,242 | 0,179 |
| 4 " " " " | 0,101 | 0,081 |
| 5 " " " " | — | 0,077 |
| 6 " " " " | — | 0,074 |
| **Zuckerreaktion im Harn nach Zuckerzufuhr.** | | |
| | (+++) 0,8 g | (+++) |

Beiderseitige Samenstrangunterbindung ruft ähnliche Veränderung hervor wie bei einseitiger Unterbindung, wie der nächste Versuch zeigt.

*Tabelle IX.*

| | Kaninchen Nr. 43, hasenartig | | Kaninchen Nr. 62, schwarz | |
|---|---|---|---|---|
| Tage nach der Operation | 28 | 105 | 55 | 74 |
| Körpergewicht (g) | 1730 | 2540 | 2300 | 2300 |
| Oral eingef. Zuckermenge pro kg (g) | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.)** | | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,078 | 0,082 | 0,115 | 0,113 |
| 1 Std. nach der Zufuhr | 0,183 | 0,245 | 0,224 | 0,275 |
| 2 " " " " | **0,192** | 0,285 | 0,235 | **0,289** |
| 3 " " " " | 0,130 | **0,306** | **0,251** | 0,225 |
| 4 " " " " | 0,095 | 0,284 | 0,190 | 0,176 |
| 5 " " " " | — | 0,214 | — | — |
| **Zuckerreaktion im Harn nach Zuckerzufuhr.** | | | | |
| | (—) | (+++) | (±) | (+++) |

Wenn bei der doppelseitigen Samenstrangunterbindung die ernährenden Gefäße gleichzeitig ligiert werden, so kommt die Herabsetzung der Zuckertoleranz ebenso schnell zustande wie bei der Kastration.

*Tabelle X.*

Kaninchen Nr. 42, hasenartig.
(Samenstrang und seine zuführenden Gefäße beiderseits unterbunden.)

| | | |
|---|---|---|
| Tage nach der Operation . . . | 13 | 28 |
| Körpergewicht (g). . . . . . . | 2200 | 2100 |
| Oral eingef. Zuckermenge pro kg | 5,0 | 5,0 |
| Blutzuckergehalt (Proz.) | | |
| Präform. Blutzucker . | 0,095 | 0,100 |
| 1 Std. nach der Zufuhr | 0,179 | 0,190 |
| 2 " " " " | **0,221** | **0,244** |
| 3 " " " " | 0,215 | 0,242 |
| 4 " " " " | 0,205 | — |
| 5 " " " " | — | — |
| Zuckerreaktion im Harn nach Zuckerzufuhr. | | |
| | (±) | (+++) |

Nach der Samenstrangunterbindung verkleinerten sich die zurückgebliebenen Hoden in den erwähnten Fällen und wurden schlaff.

Histologisch zeigten sie schon einige Monate nach der Samenstrangunterbindung Schrumpfung der Samenkanälchen mit degenerierten spermatogenen Zellen. An der Kanälchenwand fanden sich einschichtig Spermatogonien und Sertolizellen vor, und im Lumen traten vereinzelt große protoplasmareiche Zellen mit größerem kugeligen Kern oder zerfallenen pyknotischen Kernen auf. Das Interstitium wucherte mehr oder weniger, während die *Leydig*schen Zwischenzellen dabei keine oder nur eine leichte Hyperplasie zeigten. In Fällen, in denen die Gefäße schwer verletzt waren, wurde der Hoden nekrotisch. Bei meinen Versuchen konnte ich eine ausgesprochene Hyperplasie der *Leydig*schen Zellen nicht nachweisen, wie sie *Bouin* und *Ancel* angaben.

Somit wäre es mir erlaubt, insofern eine Schlußfolgerung zu ziehen, als die Degeneration und Nekrose des spermatogenen Gewebes des einseitig zurückgebliebenen Hodens bei Kaninchen ebenso eine Herabsetzung der Zuckertoleranz verursachen wie die Kastration. Bei der beiderseitigen Unterbindung traten annähernd gleiche Veränderungen wie bei einseitiger Unterbindung auf. Natürlich kamen die Veränderungen nach der Unterbindung langsamer als nach der Kastration zustande.

*Faßt man das Ergebnis der obigen Versuche zusammen,* so kann man folgendes sagen: Wenn bei Kaninchen auf der einen Seite der Hoden exstirpiert und auf der anderen Seite der Samenstrang unterbunden wurde, wird nach einer bestimmten Zeit (einige Monate später) die Herabsetzung der Zuckertoleranz nachweisbar. Bei geschlechtsreifen Kaninchen führte dieser Eingriff nach einigen Monaten die degenerative Atrophie des spermatogenen Gewebes und eine unbedeutende

Hyperplasie der *Leydig*schen Zellen herbei. Mit der Degeneration der spermatogenen Zellen kam die Herabsetzung der Zuckertoleranz zum Vorschein.

## IV. Einfluß der Röntgenbestrahlung der Keimdrüsen auf die Zuckertoleranz bei Kaninchen.

Seit der ersten Mitteilung von *Albers-Schönberg*[1]), daß die Röntgenstrahlen eine schwer schädigende Wirkung auf die männliche Keimdrüse auszuüben imstande sind, wiederholten sich eine Anzahl von Versuchen mit übereinstimmenden Ergebnissen [*Tandler* und *Gross*, *Selden*, *Buschke*, *Krause* und *Ziegler*, *Villemin*, *Bergonié* und *Tribondeau*, *Regaud* und *Dubreuil*, *Herrheimer* und *Hoffmann* u. a.[2])]. Die Röntgenstrahlen wirken elektiv zerstörend auf die spermatogenen Zellen, während die Sertoli- und Zwischenzellen intakt bleiben, ja sogar eine Hypertrophie aufweisen (*Herrheimer* und *Hoffmann* sowie andere). Auch im Eierstock setzt die Röntgenbestrahlung schwere Schädigungen [Degeneration des Follikelapparates und der Corpora lutea (*Halberstädter*[3]) u. a.].

Nach *Bouin*, *Ancel* und *Villemin*[4]) soll hierbei die interstitielle Drüse ihre morphologische Integrität bewahren und sogar hypertrophieren, während nach *Bergonié* und *Tribondeau*, *Specht* sowie *Biedl*[5]) die Röntgenstrahlen auf die interstitielle Drüse schwer schädigend wirken. Daher haben die Röntgenversuche am Ovar für die Frage der funktionellen Bedeutung der einzelnen Gewebsformation keinen entscheidenden Wert (*Biedl*).

Wie verhält sich das Tier im Kohlehydratstoffwechsel, wenn spermatogene Zellen zerstört und Sertoli- sowie Zwischenzellen zurückgelassen wurden?

Um eine diesbezügliche Beziehung aufzudecken, stellte ich folgende Versuche an:

*Versuch 4a.*

Röntgenbestrahlung der Hoden.

Fall 1. Kaninchen Nr. 1, gefleckt. 29. September, Körpergewicht 2700 g, zeigte Brunsterscheinung. Röntgenbestrahlung ohne Filtration (29. September, 2. u. 9. Oktober), die gesamte Dosis 30 H.

Fall 2. Kaninchen Nr. 2, schwarz, und Nr. 3, braun. Röntgenbestrahlung der Hoden ohne Filtration (2. u. 10. Oktober), deren Menge 20 H. Und mit Filtration (18. u. 20. Oktober, 1. November), deren Menge 15 H.

Fall 3. Kaninchen Nr. 7, braun. Bestrahlung mit Filtration (3 mm Aluminiumplatte), gesamte Dosis 20 H (24. u. 30. Oktober, 2. u. 6. November).

---

[1]) *Albers-Schönberg*, Münch. med. Wochenschr. 1903.

[2]) Zahlreiche Lit. s. *Biedl*, Innere Sekretion 2, 1916; *H. A. Colwell* and *Sidney Russ*, Radium X-ray and the living cell, S. 239. London 1915.

[3]) *Halberstädter*, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 3, 1905.

[4]) *Bouin*, *Ancel* und *Villemin*, C. r. d. l. soc. biol. 1907, S. 377.

[5]) Siehe *Biedl*, Innere Sekretion 2.

*Tabelle XI.*

Versuchsdatum, 17. X.

| | Kontrolle ♂ gefleckt, in der Brunst | Röntgennummer 1, Brunsterscheinung |
|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 2800 | 2750 |
| Zimmertemperatur (° C) | 19 | 19 |
| Präformierter Blutzucker | 0,114 | 0,115 |
| Um 10h 50' Glukose 5,0 g pro kg als 10proz. Lösung in den Magen eingeführt. | | |
| 1 Std. nach der Zufuhr | 0,227 | 0,259 |
| 2 „ „ „ „ | 0,212 | 0,253 |
| 3 „ „ „ „ | 0,179 | 0,253 |
| 4 „ „ „ „ | 0,154 | 0,243 |
| 5 „ „ „ „ | 0,129 | 0,148 |
| 6 „ „ „ „ | — | 0,102 |
| Zuckerausscheidung im Harn. | | |
| Vor der Zufuhr | (—) | (—) |
| 3 Std. nach der Zufuhr | 80 ccm (—) | 75 ccm (+++) |
| 6 „ „ „ „ | 60 „ (—) | 52 „ (—) |

*Tabelle XII.*

| Versuchsnummer | 2 | | 3 | | 7 |
|---|---|---|---|---|---|
| Datum | 30. X. | 7. XI. | 30. X. | 7. XI. | 21. XI. |
| Körpergewicht (g) | 2500 | 2400 | 2400 | 2520 | 2080 |
| Zimmertemperatur (° C) | 19 | 17 | 19 | 17 | 20 |
| Blutzuckergehalt (Proz.). | | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,114 | 0,114 | 0,101 | 0,128 | 0,125 |
| Um 11h Glukose 5,0 g pro kg als 20 Proz. in den Magen eingeführt. | | | | | |
| 1 Std. nach der Zufuhr | 0,175 | 0,258 | 0,211 | 0,254 | 0,310 |
| 2 „ „ „ „ | 0,174 | 0,299 | 0,225 | 0,205 | 0,259 |
| 3 „ „ „ „ | 0,162 | 0,235 | 0,191 | 0,265 | 0,228 |
| 4 „ „ „ „ | 0,175 | 0,253 | 0,169 | 0,184 | 0,186 |
| 5 „ „ „ „ | — | 0,169 | — | 0,163 | 0,150 |
| 6 „ „ „ „ | — | 0,176 | — | 0,093 | 0,122 |
| Zuckerausscheidung im Harn. | | | | | |
| Vor der Zufuhr | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) |
| Nach der Zufuhr | (—) | (+++) | (—) | ( ? ) | (+++) |

Aus den oben erwähnten Versuchen kann man leicht ersehen, daß einige Wochen nach der Röntgenbestrahlung der Hoden eine Herabsetzung der Zuckertoleranz zutage tritt.

## Histologische Untersuchung der bestrahlten Hoden.

Hoden des Kaninchens Nr. 1 (18. Oktober exstirpiert). Makroskopisch stark verkleinert. Mikroskopisch: spermatogene Zellen waren größtenteils zerstört, es wurden nur Sertoli- und vereinzelte spermatogene Zellen (Präspermatiden ?) gefunden. Im Kanälchenlumen befanden sich Detritusmassen, sowie große Zellen mit einem oder mehreren pyknotischen Kernen.

Das interstitielle Gewebe wucherte ziemlich hochgradig und erwies sich als zellreich.

Hoden des Kaninchens Nr. 2 (7. November exstirpiert). Stark verkleinert (jeder 1,2 g). Mikroskopisch: Spermatogene Zellen vollständig verschwunden, nur Sertolizellen blieben im Lumen erhalten, die ein- oder mehrkernigen großen Zellen waren sehr spärlich. Das Interstitium nahm bedeutend zu und erwies sich als sehr zell- und gefäßreich. Im Nebenhoden waren Spermien noch zu finden.

Hoden des Kaninchens Nr. 3 und 7. Nach dem Toleranzversuche wurden die Hoden exstirpiert, um histologisch untersucht zu werden. Befunde gleich wie Nr. 2.

Die Befunde der röntgenbestrahlten Hoden stimmen also mit den früheren Angaben fast überein.

*Versuch 4b.*

Röntgenbestrahlung der Ovarien.

Fall 1. Kaninchen Nr. 4. 24. Oktober, 1920 g, brünstig. Unter sorgfältigem Schutz der anderen Körperteile durch Bleiplatten wurden die Ovarialgegenden bestrahlt mit Filtration (3 mm Aluminiumplatte). Bestrahlt (24. u. 30. Oktober, 2. u. 6. November). Gesamtdosis 20 H. 10. November, 1900 g, noch brünstig.

Fall 2. Kaninchen Nr. 5 und 6. Wie Nr. 4 bestrahlt (24. u. 30. Oktober, 2. u. 7. November), Gesamtdosis 20 H.

*Tabelle XIII.*

| Versuchsnummer | 4 | | 5 | | 6 |
|---|---|---|---|---|---|
| Datum | 10. XI. | 14. XI. | 10. XI. | 14. XI. | 21. XI. |
| Körpergewicht (g) | 1900 | 1835 | 2180 | 2200 | 2570 |
| Zimmertemperatur (°C) | 17 | 20 | 17 | 20 | 20 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,127 | 0,129 | 0,119 | 0,127 | 0,126 |
| Um 11a Glukose 5,0 g pro kg als 20 Proz. in den Magen eingeführt. | | | | | |
| 1 Std. nach der Zufuhr | 0,206 | 0,259 | 0,227 | 0,219 | 0,289 |
| 2 ,, ,, ,, ,, | 0,240 | 0,279 | 0,242 | 0,275 | 0,321 |
| 3 ,, ,, ,, ,, | — | 0,265 | — | 0,271 | 0,246 |
| 4 ,, ,, ,, ,, | 0,134 | 0,231 | 0,254 | 0,181 | 0,220 |
| 5 ,, ,, ,, ,, | 0,112 | 0,171 | — | 0,171 | 0,202 |
| **Zuckerausscheidung im Harn.** | | | | | |
| Vor der Zufuhr | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) |
| Nach der Zufuhr | (±) | (+) | (±) | (±) | (+++) |

Auch beim Weibchen kam nach X-Bestrahlung der Ovarialgegenden eine Herabsetzung der Zuckertoleranz zum Vorschein.

Die Ovarien wurden nach dem Toleranzversuche exstirpiert, um histologisch untersucht zu werden. Makroskopisch normal, mikroskopisch zeigte sich nur eine geringe Veränderung des Follikelapparates. Dabei boten die Stromazellen keine merkliche Veränderung dar.

Aus den erwähnten Versuchen geht hervor:

1. Durch Röntgenbestrahlung der Keimdrüsen kommt eine Herabsetzung der Zuckertoleranz zustande, genau wie nach der Kastration.

2. Röntgenbestrahlung des Hodens hatte eine hochgradige Verödung der spermatogenen Zellen und eine Wucherung des Zwischengewebes zur Folge, bezüglich des Eierstockes wurde einige Wochen nach der Bestrahlung (durch mäßige Dosis) nur eine geringe Degeneration des Follikelapparates dadurch hervorgerufen.

Es liegt die Vermutung nahe, daß die Herabsetzung der Zuckertoleranz nach der X-Bestrahlung durch Wegfallen der spermatogenen Zellen (bzw. Follikelepithelien) bedingt wird.

## V. Verhalten des Blutzuckers nach parenteraler Zuckerzufuhr bei normalen und kastrierten Kaninchen.

Es gibt noch keine Versuche und Untersuchungen über das Zustandekommen der Hyperglykämie durch subkutane Zuckereinführung nach der Kastration.

### A. Hyperglykämie und Glykosurie nach subkutaner Zuckereinführung bei normalen Kaninchen.

Versuchstiere und deren Fütterung ebenso wie bei den vorigen Versuchen. Den Kaninchen wurde morgens im nüchternen Zustande (16 Stunden nach der Nahrungsaufnahme) 3,0 bis 5,0 g Glucose pro Kilogramm als 10proz. körperwarme Lösung am Rücken eingespritzt.

*Versuch 5a.*

Blutzuckerspiegel nach der subkutanen Einverleibung von Glucose (10 Proz.) bei normalen Kaninchen.

*Tabelle XIV.*

| Versuchsnummer | 1 (♂) | 2 (♂) | 3 (♂) | 4 (♂) | 5 (♂) |
|---|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 1850 | 1800 | 1750 | 2050 | 2050 |
| Zimmertemperatur (°C) | 18 | 18 | 18 | 18 | 20 |
| Zuckermenge (g) pro kg | 3,2 | 3,3 | 3,4 | 3,9 | 4,9 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,121 | 0,104 | 0,094 | 0,086 | 0,114 |
| 30 Min. nach der Injektion | — | — | 0,227 | 0,287 | 0,282 |
| 1 Std. „ „ „ | **0,272** | **0,272** | 0,252 | 0,337 | 0,282 |
| 2 „ „ „ „ | 0,246 | 0,210 | **0,262** | **0,341** | 0,285 |
| 3 „ „ „ „ | — | 0,146 | 0,176 | — | **0,316** |
| 4 „ „ „ „ | 0,193 | 0,110 | 0,149 | 0,224 | 0,240 |
| 5 „ „ „ „ | — | — | — | — | — |
| **Zuckerreaktion im Harn.** | | | | | |
| 4 Std. nach der Injektion | (⋇) | (⋇) | (+) | (+++) | (⋇) |
| 24 „ „ „ „ | (±) | (—) | (—) | (+) | (±) |

Wie obige Tabelle zeigt, tritt die Blutzuckersteigerung durch subkutane Zuckerinjektion weit stärker auf, die Hyperglykämie dauert länger und dementsprechend folgt deutliche Glykosurie im Vergleich zu der stomachalen Einführung derselben Zuckermenge.

### B. Hyperglykämie und Glykosurie nach subkutaner Zuckereinführung bei kastrierten Kaninchen.

Die kastrierten Kaninchen wurden unter ganz denselben Bedingungen untersucht wie die normalen Kaninchen.

*Versuch 5b.*

Blutzuckerspiegel nach der subkutanen Glucoseeinführung (10 Proz.) bei kastrierten Kaninchen.

*Tabelle XV.*

| Versuchsnummer | 1 (♀) | 2 (♂) | 3 (♂) | 4 (♂) |
|---|---|---|---|---|
| Tage nach der Kastration | 40 | 62 | 41 | 60 |
| Körpergewicht (g) | 1950 | 2170 | 1920 | 1900 |
| Zimmertemperatur (°C) | 18 | 18 | 20 | 20 |
| Zuckermenge (g) pro kg | 3,1 | 3,9 | 4,1 | 5,0 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,120 | 0,105 | 0,113 | 0,101 |
| 30 Min. nach der Injektion | 0,302 | 0,345 | 0,250 | 0,329 |
| 1 Std. " " " | 0,266 | 0,322 | 0,280 | 0,379 |
| 2 " " " " | 0,232 | 0,306 | 0,259 | 0,324 |
| 3 " " " " | 0,222 | — | 0,192 | 0,270 |
| 4 " " " " | 0,160 | 0,138 | 0,137 | 0,212 |
| 5 " " " " | 0,156 | — | — | 0,140 |
| **Zuckerreaktion im Harn.** | | | | |
| 4 Std. nach der Injektion | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) |
| 24 " " " " | (+) | (+) | (+) | (++) |

Vergleicht man das Gesamtresultat der geschilderten Versuche mit den Kontrollen, so kann man leicht daraus ersehen, daß die Hyperglykämie bzw. Glykosurie nach subkutaner Zuckerinjektion bei den kastrierten Kaninchen stärker hervortritt als bei den Kontrolltieren. Wo liegt der Grund dieser stärker auftretenden Hyperglykämie bei den kastrierten Tieren? Der etwaige Unterschied in der Schnelligkeit der Resorption des injizierten Zuckers bei den normalen und den kastrierten Kaninchen ist nicht festzustellen. Daher ist es sehr wahrscheinlich, daß die stärker auftretende Hyperglykämie bei den kastrierten Kaninchen entweder durch die Herabsetzung des Assimilationsvermögens oder durch die verminderte Oxydation des Zuckers im Organismus bedingt ist. Es läßt sich mit großer Wahrscheinlichkeit daraus schließen, daß die Kastration geschlechtsunspezifisch eine Herabsetzung der Zuckerassimilation nach sich zieht, ohne daß eine verminderte Zuckerverbrennung im Tierkörper ausgeschlossen werden soll,

zumal die Verminderung des Gasaustausches nach der Kastration von vielen Autoren bestätigt ist.

### VI. Einfluß der Hodentransplantation sowie Zufuhr der Hodensubstanz auf die herabgesetzte Zuckertoleranz der kastrierten Kaninchen.

Beim Säugetiere versuchten mehrere Autoren seit *Ribbert*[1]) und *Göbell*[2]) vergebens echte Transplantation des Hodens zu erzielen [*Foá*[3]), *Cevolotto*[4]), *Nakada*[5]), *Ishiyama*[6]) u. a.]. Da die Keimzellen gegen verschiedene Schädlichkeiten sehr empfindlich sind, so verfallen sie leicht in Nekrose, während die Sertolizellen nach *Maximow*[7]) und *Cevolotto*[8]) wuchern und sich in Riesenzellen umwandeln. *Steinach*[9]) wies an Ratten nach, daß im transplantierten Hoden die *Leydig*schen Zellen eine erhebliche Ausbildung erfahren (sogenannte Pubertätsdrüse), während die spermatogenen Zellen degenerieren. Dabei soll keine Veränderung der Mannbarkeit zustande kommen. Daraus schloß er, daß die *Leydig*schen Zellen der hormonbildende Teil des Hodens seien.

Wenn die sogenannte Pubertätsdrüse wirklich einen gewissen Einfluß auf den Stoffwechsel ausübt, so muß man durch eine Transplantation des Hodens auf lange Zeit hin die Herabsetzung der Zuckertoleranz nach der Kastration wieder herstellen können.

Meine diesbezüglichen Versuche sind folgende:

#### A. Transplantationsversuch.

Als Transplantationsstelle für den Hoden zog ich als für die Ausheilung und Ernährung am günstigsten das Peritoneum vor, wo ich am Omentum majus oder Peritoneum parietale zu transplantieren versuchte. Der Hoden als Transplantat wurde frisch aus gesundem geschlechtsreifen Kaninchen herausgenommen, teilweise dekapsuliert und einem anderen kastrierten Kaninchen mit Großnetz umhüllt eingenäht oder zwischen Muskelschicht und Peritoneum parietale an der Bauchwand eingenäht. Ich transplantierte den Hoden denjenigen Kaninchen, bei welchen vorher eine Herabsetzung der Zuckertoleranz bestimmt worden war. Ich habe die Hoden in fünf Fällen in das Großnetz transplantiert, in fünf Fällen an die Bauchwand.

In den meisten Fällen nekrosierten sie während des Ablaufs von 2 bis 3 Wochen, und der Einfluß auf die Zuckertoleranz war undeutlich. Hier sei nur ein Fall angegeben, bei welchem die Herabsetzung der

---

1) *Ribbert*, Arch. f. Entwicklungsmech. 1898, S. 688.
2) *Göbell*, Zentralbl. f. allg. Path. 1898, S. 737.
3) *Foá*, zitiert nach *Biedl*.
4) *Cevolotto*, Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. **8**, 331, 1909.
5) *Nakada*, Nippon-geka-gakkai-zashi **23**, 1, April 1922.
6) *Ishiyama*, The Iji-shibun Nr. 1102, 1922.
7) *Maximow*, Zieglers Beitr. **26**, 230, 1899.
8) *Cevolotto*, l. c.
9) *Steinach*, Zentralbl. f. Physiol. **25**, Nr. 17, 1911; Pflügers Arch. **144**, 71, 1912.

Zuckertoleranz durch Transplantation des Hodens ziemlich lange Zeit kompensiert wurde.

*Versuch 6.*

Kaninchen Nr. 65 (♂), schwarz. 7. Dezember 1920, 1920 g, beide Hoden ohne Narkose exstirpiert. 8. Februar 1921, 2450 g, wurde ein Hoden, welcher einem gesunden Kaninchen entnommen war, sofort an dieBauchwand transplantiert. 19. Februar 1921, der transplantierte Hoden angeheilt ohne Eiterung und kugelig elastisch derb tastbar. 15. März 1921, der Hoden verkleinert sich, und zwar derber als früher. 1. Mai 1921, der Hoden undeutlich tastbar, daher wurde das Kaninchen seziert.

Makroskopischer Befund (186 Tage nach der Transplantation): Der transplantieı te Hoden verkleinert bis auf ein Drittel der eigentlichen Größe, ragt in das Bauchinnere vor und fühlt sich derb an. Zentraler Teil nekrotisch.

Histologisch (Hämatoxylin-Eosin): Zentraler Teil ist schwach rötlich gefärbt, nekrotisch, Struktur der Samenkanälchen aber noch sichtbar, doch deren Zellen nicht gefärbt. An der Randzone war das interkanalikuläre Gewebe mit Rundzellen infiltriert und diese in Nekrobiose verfallen.

Die Veränderung der Zuckertoleranz nach der Transplantation sei unten übersichtlich tabellarisch angegeben. Alle Bedingungen beim Versuche sind dieselben, wie vorher angegeben.

*Tabelle XVI.*

| Versuchsdatum | 6. X. 1920 (Vor der Kastration) | 16. I. 1921 (40 Tage nach der Kastration) | 19. II. 1921 (11 Tage n. d. Transplantation) | 15. III. 1921 (35 Tage n. d. Transplantation) | 19. V. 1921 (100 Tage n. d. Transplantation) |
|---|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 1970 | 2310 | 2240 | 2520 | 2700 |
| Zimmertemperatur (°C) | 15 | 15 | 14 | 15 | 16 |
| Eingeführte Zuckermenge (g) | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| | Blutzuckergehalt (Proz.). | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,092 | 0,098 | 0,078 | 0,117 | 0,104 |
| 1 Std. nach der Zufuhr | **0,146** | 0,185 | **0,159** | **0,189** | **0,200** |
| 2 " " " " | 0,138 | **0,217** | 0,142 | **0,189** | 0,210 |
| 3 " " " " | 0,132 | 0,154 | 0,108 | 0,157 | **0,231** |
| 4 " " " " | 0,117 | — | 0,084 | 0,094 | 0,170 |
| 5 " " " " | 0,100 | 0,101 | — | — | — |
| 6 " " " " | — | 0,083 | 0,075 | 0,104 | — |
| | Zuckerreaktion im Harn. | | | | |
| Vor der Zufuhr | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) |
| Nach der Zufuhr | (—) | (✱) 0,22g | (—) | (—) | (✱) 0,24g |

Aus der Tabelle XVI ersieht man sofort, daß die Herabsetzung der Zuckertoleranz sich durch eine Transplantation des Hodens wiederherzustellen vermag. Der Erfolg der Transplantation war nicht dauernd, und im oben beschriebenen Falle kam nach etwa 5 Wochen wieder eine leichte Herabsetzung der Toleranz zustande, um nach etwa 14 Wochen dieselbe Toleranzgrenze wie im kastrierten Zustande auf zuweisen. Am 8. August 1921 prüfte ich wieder die Zuckertoleranz. Das Ergebnis war dasselbe wie am 19. April.

Aus dem ausgeführten Versuche geht hervor, daß die herabgesetzte Zuckertoleranz nach der Kastration durch eine Transplantation des Hodens wieder gehoben wird, daß jedoch diese Wiederherstellung nicht dauernd ist und mit der Degeneration des Hodens wiederum zu dem alten Zustande der Kastration zurückkehrt.

In meinen Fällen konnte ich keine Hyperplasie der sogenannten Pubertätsdrüse erzielen, daher kann ich nicht sicher sagen, ob die Zwischenzellen keinen Einfluß auf die Zuckertoleranz ausüben, jedoch möchte ich annehmen, daß die erhöhte Zuckertoleranz infolge einer Transplantation (resorptive Wirkung ?) mit der Degeneration des generativen Anteils wieder abnimmt.

### B. Substitution.

Setzt man voraus, daß die Hodensubstanz ein die Zuckertoleranz beförderndes Hormon enthält, so könnte man die Wiederherstellung der herabgesetzten Toleranz durch eine Einverleibung der Hodensubstanz erzielen. Ich habe aber nur negative Resultate erhalten[1]).

## VII. Glykogengehalt und Glykogenbildung in der Leber bei normalen und kastrierten Tieren.

Wie bekannt, ist die Leber das Hauptorgan der Zuckerregulation, dadurch bleibt der Nüchternblutzuckergehalt immer auf derselben Höhe.

Durch Hungern wird das Kohlehydratdepot, d. h. Glykogen der Leber ziemlich schnell aufgezehrt. Nach *Imamura* und *Kira*[2]) wird das Glykogen bei hungernden Kaninchen größtenteils in den ersten 1 bis 2 Hungertagen verbraucht, dann bleibt es einige Tage fast auf demselben Wert stehen und beträgt vor dem Tode 0,2 Proz. (Glykogengehalt der Leber). Bei Meerschweinchen verschwindet das Leberglykogen viel rascher. Den Einfluß der Kastration auf den Glykogengehalt nach dem Verhungern zeigt folgender Versuch.

### A. Glykogengehalt der Leber nach dem Verhungern bei normalen und kastrierten Tieren.

Als Versuchstiere benutzte ich Kaninchen und Meerschweinchen.

a) Bei Kaninchen:

Die normalen und kastrierten Kaninchen wurden einige Tage lang vor dem Versuche unter ganz denselben Bedingungen behandelt, indem sie mit 400 g Bohnenquarktreber und 50 g Gemüse gefüttert und dabei die übrigen Lebensbedingungen während der Versuche möglichst gleich gehalten wurden. Wie schon bemerkt, sinkt der Glykogengehalt der Leber bei Kaninchen nach etwa dreitägigem Hungern auf einen fast konstanten minimalen Wert. Ich tötete nach 3 Hungertagen ein kastriertes und ein normales Kaninchen von annähernd gleichem Körpergewicht gleichzeitig

[1]) Protokolle sind ausgelassen.
[2]) *Imamura* und *Kira*, Nippon Naika-gakkai-zashi 7, 11, 1918.

durch Nackenschlag, entblutete sofort aus der Karotis und nahm mehrere Stücke, insgesamt etwa 10 g, aus verschiedenen Portionen der Leber heraus, um sie schnell in 100°C konzentrierte Kalilauge einzubringen.

Der Glykogengehalt wurde mittels *Pflüger*scher Methode bestimmt [modifiziert nach *Imamura*[1])].

*Tabelle XVII. Versuch 7a.*

| Versuchsreihe | | 1 (23. XII.) | | 2 (26. XII.) | | 3 (9. I.) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Kontrolle (♂) | Kastriert (♂) (30 Tage nach der Kastration) | Kontrolle (♂) | Kastriert (♂) (125 Tage nach der Kastration) | Kontrolle (♂) | Kastriert (♂) (44 Tage nach der Kastration) |
| Körpergewicht (g) | vor Hunger | 2050 | 2080 | 2600 | 2100 | 2150 | 2070 |
| | nach „ | 1770 | 1830 | 2400 | 1920 | 1875 | 1770 |
| Lebergewicht (g) | | 39,2 | 41,7 | 41,7 | 40,6 | 39,9 | 43,3 |
| Glykogen | absol. Menge (g) | 0,1213 | 0,3479 | 0,2062 | 0,3764 | 0,1854 | 0,5352 |
| | in Proz. | 0,31 | 0,83 | 0,49 | 0,93 | 0,46 | 1,14 |

Durchschnitt: Kontrolle 0,42 Proz. ‖ Kastriert 0,97 Proz.

Der durchschnittliche Wert des Glykogengehaltes von drei kastrierten Kaninchen liegt also bedeutend höher als der der nicht operierten. Wie verhält sich die Leber bei normalen und kastrierten Tieren bei 20stündigem Hungern?

Um dieses Verhalten zu beobachten, fütterte ich ein normales und ein kastriertes Kaninchen einige Tage lang gleichmäßig mit einer bestimmten Menge Nahrung, wie sie vorher angegeben wurde. 20 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme wurden sie sofort getötet wie bei den vorigen Versuchen, um gleichzeitig den Glykogengehalt zu bestimmen.

*Tabelle XVIII. Versuch 7b.*

| | | Kontrolle (♂) | Kastriert*) (♂) |
|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | | 2040 | 2030 |
| Lebergewicht (g) | | 57,8 | 54,2 |
| Glykogengehalt | in g | 2,7676 | 3,3333 |
| | „ Proz. | 4,94 | 6,18 |

*) 30 Tage nach der Kastration mit herabgesetzter Zuckertoleranz.

Es scheint mir, als ob das Glykogen in der Leber bei kastrierten Kaninchen etwas langsamer aufgezehrt wird als bei Kontrollen. Doch wäre es verfrüht, aus diesen wenigen Versuchen sichere Schlüsse ziehen zu wollen.

b) Bei Meerschweinchen:

Die normalen und die kastrierten Meerschweinchen wurden unter denselben Bedingungen behandelt, indem jedes Tier täglich mit 100 g Bohnenquarktreber gefüttert wurde.

---

[1]) *Imamura*, Mitt. d. med. Fakul. d. Univ. zu Tokio **28**, H. 1, 1921.

Bei Meerschweinchen weist man nach zweitägigem Hungern nur Spuren von Glykogen nach. Ich tötete jedesmal ein normales und ein kastriertes Meerschweinchen von annähernd gleichem Körpergewicht nach etwa 30- bis 40stündigem Hungern gleichzeitig durch Nackenschlag, und entblutete sie aus der Karotis, um dann die ganze Leber zur Bestimmung des Glykogens zu verwerten.

*Versuch 7c.*

*Tabelle XIX.*

| Versuchsreihe . . . | 1 (27. XII.) | | 2 (28. XII.) | | 3 (30. XII.) | | 4 (25. II.) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Hungerstunden . . . | etwa 30 | | etwa 30 | | etwa 30 | | etwa 40 | |
| | Kontrolle (♂) | Kastriert (♂) (43 Tage nach der Kastration) | Kontrolle (♂) | Kastriert (♂) (44 Tage nach der Kastration) | Kontrolle (♂) | Kastriert (♂) (46 Tage nach der Kastration) | Kontrolle (♂) | Kastriert (♂) (40 Tage nach der Kastration) |
| Körpergewicht (g) (n. d. Verhungern) | 400 | 410 | 455 | 360 | 380 | 370 | 300 | 360 |
| Lebergewicht (g) . . | 10,2 | 9,35 | 11,2 | 7,2 | 8,2 | 7,5 | 11,3 | 11,8 |
| Glykogen absolute Menge (g) . | 0,01236 | 0,02163 | 0,01263 | 0,01236 | 0,01328 | 0,01854 | 0,0031 | 0,0185 |
| Glykogen in Proz. . . | 0,12 | 0,23 | 0,11 | 0,17 | 0,16 | 0,24 | 0,03 | 0,19 |

Beim Hungerversuche scheint die Leber nach der Kastration ihr Glykogendepot also langsamer als sonst zu verlieren.

### B. Glykogenbildung in der Leber bei normalen und bei kastrierten Kaninchen.

Im vorigen Kapitel konnte ich beweisen, daß die alimentäre Hyperglykämie bei kastrierten Kaninchen stärker auftritt als bei Kontrollen. Diese Tatsache erklärt sich durch Annahme einer herabgesetzten Assimilationskraft der Leber, wozu ein direkter Nachweis durch Untersuchung des Leberglykogens erbracht werden soll.

Die Versuchskaninchen, normale sowie kastrierte, ließ ich ebenso wie bei den vorigen Versuchen 3 Tage lang hungern, um dann 10,0 g Traubenzucker per Kopf als 20proz. Lösung mit Sonde in den Magen einzuführen. Dann tötete ich die Kaninchen 8 Stunden nach der Zuckereinführung durch Nackenschlag und bestimmte sogleich den Glykogengehalt der Leber, wie bei dem vorigen Versuch.

Ich konnte aber keinen wesentlichen Unterschied im durchschnittlichen Wert des Glykogengehaltes der Leber finden.

## VIII. Einfluß der Kastration auf den Fermentgehalt des Blutes.

### A. Amylase.

Es ist noch nicht völlig geklärt, welche Rolle die Blutamylase in dem Kohlehydratstoffwechsel spielt. Wenn der Blutamylase eine wichtige Rolle zugeschrieben werden darf, müßte man bei der Kohlehydratstoff-

wechselanomalie eine Veränderung der Blutamylase erwarten, wie *Stawraki*[1]) häufig die Abnahme dieses Ferments nach Pankreatektomie nachgewiesen hat. Ob die Kastration irgend einen Einfluß auf den Blutamylasengehalt ausübt, ist meines Wissens noch nicht untersucht. Deshalb habe ich meine Untersuchungen nach folgendem Plan angestellt: Der Amylasengehalt wurde mittels der von *B. Inouye*[2]) modifizierten *Wohlgemuth*schen Methode bestimmt.

Für die Bestimmung tierischer Amylase wird als geeignete Verdünnungsflüssigkeit folgende angewandt: (1 Teil von m/3 primäres Na-Phosphat + 2 Teile m/3 sekundäres Na-Phosphat) 50 bis 100 ccm + NaCl 8,5 g + *Wittes* Pepton (gekocht) 1 bis 2 g, destilliertes Wasser zugesetzt ad 1 Liter. Ich benutzte als Fermentlösung klares Serum aus dem nüchtern steril entnommenen Blut. Obwohl die Blutamylase sich einige Tage im Eisschrank fast unverändert aufbewahren läßt, habe ich vorsichtshalber den Amylasengehalt immer einige Stunden nach der Blutentnahme bestimmt.

12 normale und 10 kastrierte Kaninchen sind auf den Amylasengehalt untersucht. Der Amylasengehalt bei den normalen Kaninchen ist $d\,\frac{38^0\,C}{30'} = 16 - 32$ und bei den kastrierten Kaninchen $d\,\frac{38^0\,C}{30'} = 16 - 32$, es scheint also dabei kein prinzipieller Unterschied vorhanden zu sein.

### B. Glykolyse.

Seit der Entdeckung *Cl. Bernards* war die Glykolyse im Blut der Gegenstand vielfacher Untersuchungen, jedoch sind ihr Wesen und Chemismus noch nicht vollkommen aufgeklärt. Über die Beziehungen zwischen der Glykolyse und den inkretorischen Drüsen gibt es eine Reihe von Untersuchungen, insbesondere über die Beziehung zwischen der Glykolyse und dem Pankreas. Nach *Lépine* übt das Pankreas einen gewaltigen Einfluß auf die Glykolyse aus, es ergab sich nämlich nach der Entfernung des Pankreas eine Verhinderung der Glykolyse[3]). Nach *Stolper*[4]) scheinen das Pankreas und die Keimdrüsen in gleichem Sinne den Kohlehydratstoffwechsel zu beeinflussen. Es ist also denkbar, daß die glykolytische Kraft nach der Kastration eine gewisse Beeinträchtigung erfährt.

Meine diesbezüglichen Versuche sind folgende:

Die Kaninchen wurden morgens nüchtern in Rückenlage fixiert und ohne oder mit Äthernarkose aus der Karotis ganz steril entblutet. Das entnommene Blut (etwa 20 ccm) wurde sofort defibriniert und in den Brutofen (37 bis 38°C) gebracht. Die zeitliche Herabsetzung der Reduktionskraft wurde mittels *Bang*scher Mikromethode bestimmt.

---

[1]) *Stawraki*, diese Zeitschr. **69**, 370, 1915.
[2]) *Inouye*, Mitt. aus d. med. Gesellsch. zu Tokio **34**, 7, 344.
[3]) Siehe *Oppenheimer*, Die Fermente und ihre Wirkungen. 4. Aufl., **2**, 747.
[4]) *Stolper*, l. c.

*Versuch 8.*

*Tabelle XX.*

Blutglykolyse (Blutentnahme ohne Äthernarkose).

| Dauer des Versuchs | Datum: 4. II. | | | | 23. XII. | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kontrolle (♂) | | Kastriert (♂) (19 Tage nach der Kastration) | | Kontrolle (♂) | | Kastriert (♂) (16 Tage nach der Kastration) | |
| | Zuckermenge in 100 g Blut | Verlust in Proz. | Zuckermenge in 100 g Blut | Verlust in Proz. | Zuckermenge in 100 g Blut | Verlust in Proz. | Zuckermenge in 100 g Blut | Verlust in Proz. |
| Sofort . | 0,112*) | — | 0,129 | — | 0,111 | — | 0,103 | — |
| Nach 3 Std. | 0,065 | 42 | 0,088 | 32 | 0,073 | 35 | 0,081 | 21 |
| „ 6 „ | 0,039 | 65 | 0,036 | 72 | 0,024 | 79 | 0,035 | 66 |
| „ 24 „ | 0,025 | 75 | 0,011 | 91 | 0,021 | 82 | 0,019 | 82 |

*) Zuckermenge aus Reduktionskraft errechnet.

*Tabelle XXI.*

Blutglykolyse (Blutentnahme unter Äthernarkose, Narkosenhyperglykämie!)

| Dauer des Versuchs | Datum: 16. XII. | | | | 23. XII. | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kontrolle (♂) | | Kastriert (♂) (30 Tage nach der Kastration) | | Kontrolle (♂) | | Kastriert (♂) (86 Tage nach der Kastration) | |
| | Zuckermenge in 100 g Blut | Verlust in Proz. | Zuckermenge in 100 g Blut | Verlust in Proz. | Zuckermenge in 100 g Blut | Verlust in Proz. | Zuckermenge in 100 g Blut | Verlust in Proz. |
| Sofort | 0,182*) | — | 0,160 | — | 0,120 | — | 0,150 | — |
| Nach 3 Std. | 0,097 | 47 | 0,117 | 28 | 0,089 | 26 | 0,107 | 29 |
| „ 6 „ | 0,046 | 75 | 0,070 | 57 | 0,046 | 62 | 0,079 | 47 |
| „ 24 „ | 0,037 | 80 | 0,040 | 73 | 0,010 | 90 | 0,022 | 85 |

*) Zuckermenge aus Reduktionskraft errechnet.

In allen Fällen waren kulturell kleine Bakterien nachweisbar.

Wie leicht aus der Tabelle zu ersehen ist, geht die Glykolyse in den ersten Stunden energisch vor sich, während sie nachher langsamer stattfindet und nach 24stündiger Aufbewahrung im Thermostaten nur noch geringe Reduktionskraft zeigt. Aus den obigen Tabellen ersieht man, daß die Glykolyse bei den kastrierten Tieren in den ersten 3 bis 6 Stunden etwas langsamer verläuft. Die Differenz zwischen den kastrierten und den normalen Tieren war nicht so erheblich, so daß es etwas gewagt wäre zu behaupten, daß die Glykolyse durch die Kastration eine Beeinträchtigung erfahre.

Was würde nun die genannte Erscheinung bedeuten? Da die Glykolyse ausschließlich von den Formelementen des Blutes abhängig ist[1]) und in meinen Fällen die Blutzellenzahl der kastrierten Kaninchen keine besondere Abweichung von den normalen aufwies, so ist wohl zu vermuten, daß die Kastration eine trägere Zellfunktion zur Folge hat.

[1]) *Aibara*, Journ. of biochem. **1**, 157, 1922 (Tokio); *Kawashima*, ebendaselbst **2**, 131, 1922.

## IX. Adrenalinwirkung bei normalen und bei kastrierten Kaninchen.

*Cristofoletti*[1]) hat zuerst beobachtet, daß die Adrenalininjektion die Glykosurie viel rascher bei kastrierten als bei normalen Tieren hervorrief. *Biedl* und *Stolper*[2]) bestätigen dies. *Adler*[3]) hat klinisch bei Frauen dieselbe Tatsache beobachtet. *Ch. Baillod*[4]) bestätigte mittels *Bang*scher Mikromethode eine stärkere Hyperglykämie durch Adrenalininjektion sowohl bei ovariotomierten Frauen als auch experimentell bei kastrierten Kaninchen. Nach *Mochizuki*[5]) sowie *Taya*[6]) zeigt das Ovarialextrakt eine unterdrückende Wirkung auf die Adrenalinhyperglykämie.

Folgende Versuche wurden angestellt, um den Einfluß der Kastration auf Adrenalinhyperglykämie beim Männchen zu studieren:

Die Kaninchen wurden einige Tage lang pro Kopf mit 400 g Bohnenquarktreber und 50 g Gemüse als Tagesdosis gefüttert. Um bei meinen Versuchen individuelle Verschiedenheiten möglichst auszuschalten, stellte ich die Untersuchung zum Vergleichen der Adrenalinwirkung an denselben Tieren an. Nach *Sekita*[7]) reagiert das Kaninchen bei der zweiten Adrenalininjektion ebenso stark wie bei der ersten betreffs der Hyperglykämie bei einer Zwischenzeit von 2 Wochen, in bezug auf die glykosurische Wirkung von einem Monate. Die benutzte Adrenalinlösung ist aus Adrenalinpulver (Takamine-Institut) (1 prom., schwach sauer) hergestellt und im Eisschrank vor Licht geschützt aufbewahrt. Adrenalin wurde morgens nüchtern (etwa 16 Stunden nach der Fütterung) am Rücken subkutan injiziert.

*Tabelle XXI. Versuch 9.*

Blutzuckerspiegel nach der subkutanen Injektion von 1,0 ccm einer 1 prom. Adrenalinlösung bei normalen Kaninchen.

| Kaninchen Nr. | 10 (♂) (gefleckt) | 11 (♂) (schwarz) | 12 (♂) (gefleckt) | 14 (♂) (braun) |
|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 1810 | 2280 | 2160 | 2250 |
| Zimmertemperatur (° C) | 12 | 13 | 13 | 14 |
| | Blutzuckergehalt (Proz.) | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,087 | 0,077 | 0,078 | 0,101 |
| 30 Min. nach der Injektion | 0,159 | 0,170 | 0,192 | 0,171 |
| 1 Std. „ „ „ | 0,249 | 0,206 | 0,235 | 0,246 |
| 2 „ „ „ „ | 0,288 | 0,223 | 0,240 | 0,251 |
| 3 „ „ „ „ | 0,289 | 0,250 | 0,217 | 0,274 |
| 4 „ „ „ „ | — | — | — | 0,300 |
| 5 „ „ „ „ | — | — | — | 0,309 |
| 6 „ „ „ „ | 0,250 | 0,163 | 0,220 | 0,251 |
| 7 „ „ „ „ | — | — | — | 0,246 |
| 8 „ „ „ „ | — | 0,104 | — | 0,238 |
| 9 „ „ „ „ | — | — | — | 0,190 |
| Zucker im Harn (g) | 2,8 | 1,4 | 3,0 | 3,3 |

1) *Cristofoletti*, l. c.
2) Siehe *Biedl*, Innere Sekretion II.
3) *Adler*, Arch. f. Gynäk. **95**, 349, 1911.
4) *Baillod*, Korrespondenzbl. f. Schweiz. Ärzte, Nr. 50, 1919.
5) *Mochizuki*, Nippon Fujinkakai-zashi **16**, 9, 1921.
6) *Taya*, Taisho Fujinka-gakkai-kaiho, September 1922.
7) *Sekita*, Mitt. d. med. Fakult. d. kaiserl. Univ. zu Tokio **24**, H. 3, S. 336, 1920.

*Tabelle XXII.*

Blutzuckerspiegel nach der subkutanen Injektion 1,0 ccm einer 1 prom. Adrenalinlösung bei kastrierten Kaninchen.

| Kaninchen Nr. | 10 (♂) (gefleckt) | 11 (♂) (schwarz) | 12 (♂) (gefleckt) | 14 (♂) (braun) |
|---|---|---|---|---|
| Tage nach der Kastrierung | 42 | 21 | 46 | 19 |
| Körpergewicht (g) | 1850 | 2300 | 1950 | 2300 |
| Zimmertemperatur (° C) | 14 | 14 | 15 | 15 |
| | Blutzuckergehalt (Proz.) | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,096 | 0,112 | 0,107 | 0,118 |
| 30 Min. nach der Injektion | 0,184 | 0,175 | 0,225 | 0,243 |
| 1 Std. „ „ „ | 0,236 | 0,229 | 0,272 | 0,313 |
| 2 „ „ „ „ | 0,314 | 0,265 | 0,301 | 0,335 |
| 3 „ „ „ „ | 0,331 | **0,295** | 0,325 | 0,350 |
| 4 „ „ „ „ | **0,351** | 0,254 | **0,348** | **0,354** |
| 5 „ „ „ „ | 0,324 | 0,205 | 0,324 | 0,305 |
| 6 „ „ „ „ | — | — | — | — |
| 7 „ „ „ „ | 0,207 | 0,138 | 0,221 | 0,191 |
| 8 „ „ „ „ | — | — | — | — |
| 9 „ „ „ „ | 0,123 | 0,108 | — | — |
| Zucker im Harn (g) | 2,5 | 1,5 | 3,7 | 4,2 |
| Tage n. d. ersten Injektion | 45 | 25 | 48 | 22 |

Vergleicht man beide Versuche, welche an denselben Kaninchen angestellt wurden, so wird man bemerken, daß auch bei den kastrierten Männchen die Adrenalinhyperglykämie stärker hervortrat. Was die Genese dieser stark auftretenden Hyperglykämie anbelangt, so nahmen *Cristofoletti*, *Adler*, *Guggisberg*[1]) u. a. den gesteigerten Sympathicotonus dafür in Anspruch, der durch Kastration herbeigeführt wird. Nach den genannten Autoren weist das Ovarium eine hemmende Wirkung auf das chromaffine System auf. Hierbei habe ich einige Versuche darüber angestellt, ob der vermutete sympathicotonische Zustand experimentell nachgewiesen werden kann.

a) Adrenalinmydriasisprobe.

Nach *Löwi*[2]) reagieren die sympathicotonisch Übererregbaren durch eine Einträufelung von 1 bis 3 Tropfen der käuflichen Adrenalinlösung in den Konjunktivalsack mit mehr oder weniger starker Mydriasis. Ich habe 20 gesunde Kaninchen mit verschiedener Farbe des Fells beobachtet und an drei unter fünf weißen Kaninchen leichte Mydriasis nachgewiesen. Unter 18 kastrierten Kaninchen (3 Wochen nach der Kastration) wurden bei zwei weißen kastrierten Weibchen deutliche Mydriasis beobachtet, während die männlichen und weiblichen anderer Farbe gar keine oder unbedeutende Mydriasis zeigten.

---

[1]) *Guggisberg*, Zentralbl. f. Gynäk., Nr. 28, 1919.

[2]) *Löwi*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **59**, 83, 1908.

b) Csépaische Reaktion[1]).

Diese Reaktion besteht darin, daß man nach der Einträufelung von Adrenalin bzw. Pituitrin in den Konjunktivalsack eine Anämie der Schleimhaut während einiger Zeit beobachtet. Bei der Funktionsherabsetzung des chromaffinen Systems soll die Adrenalinreaktion stark positiv ausfallen, während bei der Funktionssteigerung des chromaffinen Systems die Pituitrinreaktion stark positiv ausfällt.

Aber die Annahme *Csépais* wird neuerdings vielfach bestritten. Die normalen Kaninchen zeigten bei meinen Versuchen fast keine Anämie nach der Einträufelung des Adrenalins, während die kastrierten Männchen und Weibchen mehr oder weniger lange Zeit eine Anämie aufwiesen. Auf Pituitrin reagierten weder die normalen noch die kastrierten.

Aus diesem Resultat läßt sich nichts Sicheres über den Sympathicotonus nach der Kastration aussagen.

### X. Diuretinhyperglykämie bei normalen und kastrierten Kaninchen.

Die Diuretinhyperglykämie gilt jetzt im allgemeinen als die Folge der Reizung des Zuckerzentrums. Wie schon bemerkt, scheint die Kastration einen sympathicotonischen Zustand hervorzurufen. Es wäre nun interessant zu untersuchen, wie sich die kastrierten Tiere gegen Diuretin verhalten.

Um den Ernährungszustand der Versuchskaninchen immer möglichst gleich zu setzen, wurden sie einige Tage lang mit einer bestimmten Menge Nahrung (wie vorher erwähnt) gefüttert, und morgens nüchtern (etwa 16 Stunden nach der letzten Fütterung) für den Versuch benutzt.

*Versuch 10.*

*Tabelle XXIII.*

Blutzuckerspiegel nach intravenöser Injektion von Diuretin bei normalen Kaninchen.

| Versuchsnummer | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) und Geschlecht | 1970 (♂) | 1750 (♂) | 1950 (♀) | 1950 (♀) |
| 6proz. Diuretin (ccm) | 6,0 | 6,0 | 10,0 | 10,0 |
| Blutzuckergehalt (Proz.). | | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,086 | 0,091 | 0,114 | 0,103 |
| 30 Min. nach der Injektion | **0,189** | **0,160** | 0,158 | 0,166 |
| 1 Std. " " " | 0,130 | 0,153 | **0,191** | 0,180 |
| 2 " " " " | 0,121 | 0,108 | 0,180 | 0,190 |
| 3 " " " " | 0,105 | 0,111 | 0,142 | **0,209** |
| 4 " " " " | 0,097 | 0,104 | — | 0,178 |

[1]) *Csépai*, Deutsch. Arch. f. klin. Med., Nr. 116, 1914.

*Tabelle XXIV.*

Blutzuckerspiegel nach intravenöser Injektion von Diuretin bei kastrierten Kaninchen.

| Versuchsnummer | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) u. Geschlecht | 1900 (♂) | 1750 (♂) | 1950 (♀) | 1850 (♀) | 2000 (♂) |
| Tage nach der Kastration | 45 | 30 | 20 | 22 | 60 |
| 6 proz. Diuretin (ccm) | 6,0 | 6,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Blutzuckergehalt (Proz.). | | | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,092 | 0,097 | 0,094 | 0,115 | 0,096 |
| 30 Min. n. d. Injektion | 0,133 | **0,170** | 0,192 | 0,200 | 0,180 |
| 1 Std. „ „ „ | **0,145** | 0,157 | 0,204 | 0,224 | 0,192 |
| 2 „ „ „ „ | 0,109 | 0,108 | **0,215** | **0,250** | 0,200 |
| 3 „ „ „ „ | 0,113 | 0,111 | 0,139 | 0,213 | **0,212** |
| 4 „ „ „ „ | — | 0,104 | — | — | 0,198 |

Wie die obigen Versuche zeigen, scheint bei den kastrierten Kaninchen, besonders bei den kastrierten Weibchen die Diuretinhyperglykämie etwas stärker hervorzutreten. Beim männlichen Kastraten war dieses Verhalten undeutlich, doch scheint auch eine analoge Erscheinung einzutreten wie beim kastrierten Weibchen.

## XI. Pituitrinwirkung auf den Blutzuckergehalt bei normalen und kastrierten Kaninchen.

Daß Hypophyse und Keimdrüse in inniger Beziehung zueinander stehen, ist schon von vielen Seiten nachgewiesen worden.

Das Inkret aus dem Hinterlappen der Hypophyse wirkt vornehmlich auf die sympathischen Nerven und nach *Cushing*[1]) hat es ebenfalls mit dem Zuckerstoffwechsel etwas zu tun, indem experimentell durch Entfernung des Hinterlappens eine Toleranzsteigerung für Zucker nachgewiesen wurde. Das Extrakt des Hinterlappens, welches im Handel als Pituitrin bekannt ist, hat bei subkutaner Injektion von 1,0 bis 3,0 ccm keine besondere Hyperglykämie zur Folge [*Stenström*[2]), *Yokomori*[3]), *Narabayashi*[4]) u. a.], während hingegen bei intravenöser Einverleibung eine deutliche Hyperglykämie hervorgerufen wird (*Stenström*, *Narabayashi*). Wie reagiert nun das kastrierte Tier auf Pituitrin?

Bisher gibt es keinen Versuch darüber. Ich habe nun folgende Versuche ausgeführt, um den Einfluß des Pituitrins auf kastrierte Kaninchen zu beobachten.

---

[1]) *Cushing*, John Hopkins Hosp. Bull. 22, 1911 (zitiert nach *Kraus* und *Burgsch*, sp. Pathol. u. Therap. 1, 661).

[2]) *Stenström*, diese Zeitschr. 58, 472, 1914.

[3]) *Yokomori*, Nishin-igaku, 8. Jahrg., Nr. 2, S. 263, 1918.

[4]) *Narabayashi*, The Chiugai-iji-shimpô, Nr. 970—973, 1920.

*Versuch 11.*

*Tabelle XXV.*

Blutzuckerspiegel nach intravenöser Injektion von 1,0 ccm Pituitrin (Parke-Davis Co.) bei normalen Kaninchen.

| Versuchsnummer | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht und Geschlecht | 2000 (♂) | 1720 (♂) | 1750 (♂) | 1900 (♀) |
| | Blutzuckergehalt (Proz.). | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,102 | 0,101 | 0,101 | 0,103 |
| 15 Min. nach der Injektion | — | 0,116 | 0,132 | 0,115 |
| 30 " " " " | 0,101 | 0,131 | 0,135 | 0,128 |
| 60 " " " " | 0,099 | 0,136 | 0,137 | 0,122 |
| 90 " " " " | — | 0,108 | — | — |
| 120 " " " " | 0,081 | 0,096 | 0,106 | — |

Durch intravenöse Injektion von 1,0 ccm Pituitrin trat bei Kaninchen keine oder nur ganz leichte Hyperglykämie auf.

*Tabelle XXVI.*

Blutzuckerspiegel nach intravenöser Injektion von 1,0 ccm Pituitrin (Parke-Davis Co.) bei kastrierten Kaninchen.

| Versuchsnummer | 1 | 2 | 3 | 4 | 5*) |
|---|---|---|---|---|---|
| Tage nach der Kastration | 35 | 44 | 60 | 19 | 20 |
| Körpergewicht (g) u. Geschlecht | 1800 (♂) | 1800 (♂) | 1700 (♂) | 1780 (♂) | 1950 (♂) |
| | Blutzuckergehalt (Proz.). | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,093 | 0,109 | 0,099 | 0,117 | 0,122 |
| 15 Min. n. d. Injektion | 0,135 | 0,122 | 0,156 | 0,145 | 0,129 |
| 30 " " " " | 0,142 | 0,121 | 0,150 | 0,150 | 0,130 |
| 60 " " " " | 0,148 | — | 0,150 | 0,160 | 0,131 |
| 90 " " " " | — | — | — | 0,129 | 0,105 |
| 120 " " " " | 0,097 | — | 0,115 | 0,116 | 0,108 |

*) 0,7 ccm injiziert.

Vergleicht man dieses Resultat mit dem an den Kontrolltieren gefundenen, so zeigt sich, daß bei den kastrierten Kaninchen die Blutzuckersteigerung deutlicher hervortritt.

Wie erwähnt, kommt nach der Kastration der Sympathicotonus zustande, woraus sich schließen läßt, daß die kastrierten Tiere auf Pituitrin stärker reagieren.

Ob dies mit der Vergrößerung der Hypophyse nach der Kastration in gewisse Beziehung zu setzen ist, kann man natürlich nicht sicher sagen.

## XII. Wirkung der Schilddrüsensubstanz auf den Blutzuckergehalt und die Zuckertoleranz bei normalen und bei kastrierten Kaninchen.

Die Beziehung zwischen Schild- und Keimdrüsen wurde vielfach untersucht, ohne ein sicheres Resultat zu erzielen.

*Korentschewsky*[1]) und seine Schüler untersuchten die Beziehungen zwischen Schild- und Keimdrüsen in Verbindung mit deren Einfluß auf den Stoffwechsel und nahmen an, daß Schild- und Keimdrüsen synergetisch wirken.

Über eine diesbezügliche Wirkung zwischen Schild- und Keimdrüsen bei der Blutzuckerregulation liegen noch keine Untersuchungen vor.

## A. Wirkung der Schilddrüsensubstanz auf den Blutzuckergehalt bei normalen und kastrierten Kaninchen.

Es bestehen mehrere Untersuchungen über den Einfluß der Schilddrüsenzufuhr auf den Blutzuckergehalt bei normalen Kaninchen. Die Ergebnisse der Untersuchungen sprechen ungefähr übereinstimmend in dem Sinne, daß dabei keine oder nur geringere Veränderungen konstatiert werden können [*Boe*[2]), *Kuriyama*[3]), *Kamimura*[4]), *Okada*[5]), *Riu*[6]) u. a.].

Ich habe die getrocknete, im Exsikkator aufbewahrte Schilddrüsensubstanz (vom Rind) verwendet. Um bei den Kaninchen den hyperthyreoidotischen Zustand zu erzeugen, habe ich sie 3 Tage lang täglich mit 1,0 g der getrockneten Schilddrüsensubstanz gefüttert, die vorher in Wasser emulsiert und dann mit der Schlundsonde in den Magen eingeführt wurde. Am ersten und zweiten Tage nach der Zufuhr zeigte das Kaninchen keine besondere Veränderung, außer einer Abnahme des Körpergewichts und der Freßlust. Am dritten Tage traten meist eine starke Gewichtsabnahme und Diarrhöen auf. 1 bis 2 Tage nach der Zufuhr der Schilddrüsensubstanz von 3,0 g habe ich in einigen Fällen Exophthalmus beobachtet. Mit zunehmender Vergiftung vermehrten sich Atem- und Pulszahl.

*Versuch 12a.*

Blutzuckerwert (nüchtern) vor und nach der Schilddrüsenzufuhr bei normalen und kastrierten Kaninchen (täglich 1,0 g, 3 Tage lang). Durchschnittlicher Blutzuckerwert (Prozent) von je fünf Fällen.

| | Vor der Zufuhr | Nach d. Zufuhr |
|---|---|---|
| Normale Kaninchen . | 0,102 | 0,121 |
| Kastrierte Kaninchen | 0,099 | 0,106 |

Der Nüchternwert des Blutzuckers wurde durch eine Schilddrüsenfütterung mit 3,0 g getrockneter Rinderschilddrüse wenig oder gar nicht beeinflußt, sowohl bei den normalen Kaninchen, als auch bei den kastrierten.

---

[1]) *Korentschewsky*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. **16**, 68, 1914.
[2]) *Boe*, diese Zeitschr. **64**, 450, 1914.
[3]) *Kuriyama*, Amer. Journ. of biol. Chem. **38**, 193, 1917.
[4]) *Kamimura*, Mitt. d. med. Fakult. d. kaiserl. Univ. zu Tokio **23**, H. 1, 1919.
[5]) *Okada*, Nippon Naika-gakkai-zashi **9**, Nr. 3, 1921.
[6]) *Riu*, ebendaselbst **10**, Nr. 6, S. 476. 1922.

### B. Einfluß der Schilddrüsensubstanz auf die Zuckertoleranz bei normalen Kaninchen.

Bei intrastomachaler Einverleibung von Schilddrüsensubstanz oder bei subkutaner Injektion von Schilddrüsensaft [Kaninchen, Hund [1])] tritt häufig Glykosurie auf, die bei Aussetzen der Schilddrüsenzufuhr wieder verschwindet.

Da der Nüchternwert des Blutzuckers hier keine besondere Veränderung erfährt, muß diese Glykosurie alimentärer Natur sein. Die Herabsetzung der Zuckertoleranz nach einer Schilddrüsenzufuhr wurde *von Noorden* [2]), *Krause* und *Cramer* [3]), *Kamimura* [4]) u. a. nachgewiesen.

Ich habe auch experimentell dasselbe Resultat bekommen. Die Protokolle sind hier nicht wiedergegeben.

### C. Einfluß der Schilddrüsenzufuhr auf die Zuckertoleranz bei kastrierten Kaninchen.

Nach der Kastration kommt die Herabsetzung der Toleranz für Traubenzucker zustande, wie oben nachgewiesen wurde. Es wäre sehr interessant zu erforschen, ob die Schilddrüsensubstanz auf die Toleranzherabsetzung bei den kastrierten Kaninchen einen gewissen Einfluß ausüben würde. Meines Wissens gibt es keine derartigen Untersuchungen.

*Versuch 12b.*

Fall 1. Kaninchen Nr. 1 (♀). 13. September, 353 Tage nach der Kastration, Zunahme des Körpergewichts betrug seit der Kastration 480 g. Vom 15. bis 16. September und am 19. September täglich 1,0 g getrockneter Rinderschilddrüse stomachal verabreicht. Am 20. September Kot diarrhöisch.

Fall 2. Kaninchen Nr. 5 (♂). 8. August, 277 Tage nach der Kastration, Zunahme des Körpergewichts seit der Kastration 680 g. Vom 10. bis 13. August täglich 1,0 g getrockneter Schilddrüse stomachal verabreicht. 13. August, seit gestern Freßlust vermindert, Kot weich, Abnahme des Körpergewichts betrug 220 g. Am 13. August wurde die Zuckertoleranz 1 Stunde nach der letzten Schilddrüsenzufuhr geprüft.

Fall 3. Kaninchen Nr. 11 (♂). 2. März, 22 Tage nach der Kastration. Vom 3. bis 5. März wie Nr. 5 behandelt. Am 6. März Kot weich.

Fall 4. Kaninchen Nr. 12 (♂). 1. März, 3 Wochen nach der Kastration, und vom 3. bis 5. März wie Nr. 11 behandelt. Am 6. März, Abnahme des Körpergewichts betrug 220 g, Kot weich.

(Alle Bedingungen beim Versuche sind dieselben wie beim Versuche 2.)

---

[1]) *Noorden*, Zuckerkrankheit 1917, S. 64.
[2]) *Noorden*, l. c.
[3]) *Krause* and *Cramer*, Journ. of Physiol. Proceed. **44**, **23**, 1912.
[4]) *Kamimura*, l. c.

*Tabelle XXVII.*

| Kaninchen Nr. | 1 (♀) | | 5 (♂) | | 11 (♂) | | 12 (♂) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Datum | 13. IX. | 20. IX. | 8. VIII. | 13. VIII. | 2. III. | 6. III. | 1. III. | 6. III. |
| (Schilddrüsenzufuhr) | (vor) | (nach) | (vor) | (nach) | (vor) | (nach) | (vor) | (nach) |
| Körpergewicht (g) | 2400 | 2200 | 2650 | 2430 | 2120 | 1950 | 2170 | 1950 |
| Zuckermenge (g) | 12,0 | 12,0 | 15,0 | 15,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Zimmertemperatur (°C) | 22 | 25 | 29 | 28 | 15 | 13 | 15 | 13 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | | | | | | | |
| Präform. Blutzucker | 0,104 | 0,119 | 0,104 | 0,101 | 0,088 | 0,100 | 0,094 | 0,099 |
| 1 Std. nach der Zuckerzufuhr | 0,235 | 0,241 | 0,203 | 0,157 | 0,194 | 0,167 | 0,205 | 0,195 |
| 2 „ | 0,293 | 0,230 | 0,219 | 0,135 | 0,176 | 0,139 | 0,254 | 0,192 |
| 3 „ | 0,318 | 0,180 | 0,232 | 0,138 | 0,216 | 0,107 | 0,233 | 0,201 |
| 4 „ | — | — | 0,170 | 0,125 | 0,188 | 0,100 | 0,155 | 0,131 |
| 5 „ | — | — | — | 0,114 | — | 0,100 | — | — |
| 6 „ | — | — | 0,100 | 0,107 | — | 0,100 | 0,137 | 0,104 |
| **Zucker im Harn.** | | | | | | | | |
| Vor d. Zuckerzufuhr | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) | (—) |
| Nach d. „ | (+++) | (✱) | (+++) | (—) | (+++) | (—) | (+++) | (✱) |

Vergleicht man in der obigen Tabelle den Grad der alimentären Hyperglykämie bzw. Glykosurie bei den kastrierten Kaninchen vor und nach der Kastration nach der Schilddrüsenverabreichung, so ist leicht zu ersehen, daß bei den kastrierten im Gegensatz zu den normalen Kaninchen durch die Schilddrüsenfütterung eine Erhöhung der Zucker-

*Versuch 12c.*

Kaninchen Nr. 18 (♂) kastriert. Traubenzucker als 10proz. körperwarme Lösung subkutan injiziert.

*Tabelle XXVIII.*

| Datum | 12. X.¹) (vor der Schilddrüsenfütterung) | 21. X.²) (nach der Schilddrüsenfütterung) |
|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 2170 | 1940 |
| Injizierte Zuckermenge (ccm) | 84 | 80 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,105 | 0,104 |
| 30 Min. nach der Injektion | 0,345 | 0,265 |
| 1 Std. „ „ „ | 0,322 | 0,283 |
| 2 „ „ „ „ | 0,306 | 0,214 |
| 3 „ „ „ „ | — | 0,154 |
| 4 „ „ „ „ | 0,138 | 0,140 |
| 5 „ „ „ „ | — | — |
| **Zucker im Harn.** | | |
| Vor der Injektion | (—) | (—) |
| Nach der „ | (+++ | (✱) |

[1]) 61 Tage nach der Kastration.

[2]) Vom 18. bis 21. Oktober täglich 1,0 g von getrockneter Rinderschilddrüse gefüttert. 1 Stunde nach der letzten Schilddrüsenfütterung wurde Zucker injiziert.

toleranz zustande kommt. Namentlich die alimentäre Hyperglykämie ist hier in der Intensität niedriger und kehrt schneller zum normalen Wert zurück. Wie bekannt, ruft die Schilddrüsenzufuhr beim Kaninchen Diarrhöe hervor, deshalb muß das Verhalten der Zuckerresorption im Darmkanal dabei berücksichtigt werden. Um das Verhalten der Darmresorption außer acht lassen zu können, habe ich den Tieren den Traubenzucker subkutan verabreicht und den Grad der Hyperglykämie vor und nach der Schilddrüsenzufuhr verglichen.

Die Hyperglykämie wird nach Zuckerinjektion bei den kastrierten Kaninchen durch die Schilddrüsenfütterung teilweise unterdrückt, im Gegensatz zu den normalen. Setzt man die subkutane Resorptionsfähigkeit nach der Schilddrüsenzufuhr bei den normalen der der kastrierten Tiere als gleich voraus[1], so lassen die erwähnten Ergebnisse erkennen, daß bei den kastrierten Kaninchen nach der Schilddrüsenzufuhr entweder die Zuckerassimilation erhöht oder die Zuckerverbrennung im Organismus gesteigert wird, oder aber daß beide Momente zusammenwirken. Nach Verabreichung von täglich 1,0 g getrockneter

*Versuch* 12*d*.

Kastriertes Kaninchen Nr. 1 (♀), braun.

*Tabelle XXIX.*

| Datum | 13. IX.[2] | 17. IX.[3] | 20. IX.[4] |
|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 2400 | 2370 | 2200 |
| Zuckermenge (g) | 12,0 | 12,0 | 12,0 |
| Zimmertemperatur (°C) | 22 | 20 | 25 |
| Blutzuckergehalt (Proz.). | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,104 | 0,108 | 0,119 |
| 1 Std. nach der Zuckerzufuhr | 0,235 | 0,250 | **0,241** |
| 2 " " " " | 0,293 | **0,278** | 0,230 |
| 3 " " " " | **0,313** | 0,223 | 0,180 |
| 4 " " " " | — | — | — |
| 5 " " " " | — | — | — |
| 6 " " " " | — | — | — |
| Zucker im Harn. | | | |
| Vor der Zuckerzufuhr | (—) | (—) | (—) |
| Nach der " | (+++) | (+++) | (✗) |

[1]) Nach *Okano* (Nippon Naika-gakkai-zashi **10**, Nr. 10, S. 923, 1922) soll die Ausscheidung von subkutan injiziertem Phenolsulfonphthalein und Jodkali im Harn bei den mit Schilddrüsen gefütterten Kaninchen gesteigert sein.

[2]) 353 Tage nach der Kastration.

[3]) Vom 15. bis 16. September täglich getrocknete Schilddrüse 1,0 g gefüttert, keine Vergiftungssymptome.

[4]) 19. September, getrocknete Schilddrüse 1,0 g. 20. September, vor Zuckerzufuhr 4 Proz. Schilddrüsenextrakt 20 ccm subkutan injiziert. Kot leicht diarrhöisch.

Rinderschilddrüse sind beim Kaninchen an den ersten 2 Tagen keine auffallenden thyreotoxischen Symptome nachweisbar, während am dritten Tage sogar 1 bis 2 Tage nach dem Aussetzen der Medikation ein typisch hyperthyreoidatischer Zustand einzutreten pflegt, id est — frequenter Puls, beschleunigte Atmung, Erweiterung der Lidspalten, Exophthalmus, heftige Diarrhöe, starke Abmagerung usw.

Zur Steigerung der Zuckertoleranz ist ein bestimmter hyperthyreoidotischer Zustand nötig. Wenn die Menge der Schilddrüsensubstanz ungenügend ist und ein hyperthyreoidotischer Zustand nicht zum Vorschein kommt, so ist auch die Steigerung der Zuckertoleranz undeutlich, wie die Tabelle XXIX beweist.

Die diesbezügliche Wirkung bei den kastrierten Kaninchen kehrt nach dem Aussetzen der Schilddrüsenzufuhr wieder zum früheren Zustand zurück, wie folgende zwei Fälle bestätigen.

Faßt man die erwähnten Ergebnisse zusammen, so gelangt man zu folgenden Schlüssen:

1. Der Nüchternwert des Blutzuckers erfährt nach der Schilddrüsenzufuhr sowohl bei normalen als auch bei kastrierten Kaninchen eine geringfügige Vermehrung, woraus man irgend einen sicheren Schluß nicht ziehen kann.

2. Die Toleranz für den Traubenzucker wird bei den nicht kastrierten Kaninchen bei thyreotoxischem Zustande herabgesetzt.

3. Bei den kastrierten Kaninchen ist im Gegensatz zu den normalen eine Steigerung der Zuckertoleranz nach Schilddrüsenzufuhr zu konstatieren.

4. Die toleranzsteigernde Wirkung der Schilddrüsensubstanz bei den kastrierten Kaninchen verschwindet wieder nach dem Aussetzen der Schilddrüsenzufuhr.

## Anhang.

### 1. *Keimdrüse und Nierenfunktion.*

Wenn man das Resultat der Blut- und Harnzuckeranalyse bei normalen und kastrierten Kaninchen betrachtet, so ist nicht zu verkennen, daß die Niere des kastrierten Kaninchens viel leichter Traubenzucker durchläßt als die der normalen Tiere. Angeregt durch diese Beobachtung stellte ich folgende Versuche an, um das diesbezügliche Verhalten der Niere zu erforschen:

Nach *Masui* und *Tamura*[1]) soll das Gewicht der Nieren bei den kastrierten Tieren leichter als das der Kontrolltiere sein. Daß die Schwangerschaftsglykosurie renaler Natur ist, wurde von vielen Autoren bestätigt [*v. Noorden*[2]), *Novak, Porges* und *Strisower*[3]), *Guggisberg*[4]) u. a.]. *Frank*

[1]) *Masui* und *Tamura*, briefl. Mitt., noch nicht veröffentlicht (Arbeit aus der hiesigen agrikul. Fakult.).

[2]) *Noorden*, Zuckerkrankheit 1917.

[3]) *Novak, Porges* und *Strisower*, Zeitschr. f. klin. Med. 78, 413, 1913.

[4]) *Guggisberg*, Gynäk. Rundsch. 11, 1917.

*Versuch 12e.*

Fall 1. Kastriertes Kaninchen Nr. 12 (♂), gefleckt.

*Tabelle XXX.*

| Datum | 1. III.[1] | 6. III.[2] | 16. III.[3] | 17. IV.[4] |
|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 2170 | 1950 | 1900 | 2100 |
| Zuckermenge (g) | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Zimmertemperatur (°C) | 15 | 13 | 15 | 15 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,094 | 0,099 | 0,109 | 0,105 |
| 1 Std. nach der Zuckerzufuhr | 0,205 | 0,195 | 0,225 | 0,231 |
| 2 „ „ „ „ | 0,254 | 0,192 | 0,254 | 0,244 |
| 3 „ „ „ „ | 0,233 | 0,201 | 0,205 | 0,248 |
| 4 „ „ „ „ | 0,155 | 0,131 | 0,131 | — |
| 5 „ „ „ „ | — | — | — | 0,126 |
| 6 „ „ „ „ | 0,137 | 0,104 | 0,103 | — |
| **Zucker im Harn.** | | | | |
| Vor der Zuckerzufuhr | (—) | (—) | (—) | (±) |
| Nach der „ | (+++) | (✱) | (+++) | (+++) |

[1]) 3 Wochen nach der Kastration.

[2]) Vom 3. bis 5. März täglich 1,0 g getrocknete Schilddrüse gefüttert.

[3]) 10 Tage nach der letzten Schilddrüsenzufuhr.

[4]) 41 Tage nach der letzten Schilddrüsenzufuhr.

Fall 2. Kastriertes Kaninchen Nr. 11 (♂), schwarz.

*Tabelle XXXI.*

| Datum | 2. III.[1] | 6. III.[2] | 15. III.[3] |
|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 2120 | 1950 | 1950 |
| Zuckermenge (g) | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Zimmertemperatur (°C) | 15 | 13 | 14 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,088 | 0,100 | 0,111 |
| 1 Std. nach der Zuckerzufuhr | 0,194 | 0,167 | 0,192 |
| 2 „ „ „ „ | 0,176 | 0,139 | 0,162 |
| 3 „ „ „ „ | 0,216 | 0,107 | 0,130 |
| 4 „ „ „ „ | 0,188 | 0,100 | 0,120 |
| 5 „ „ „ „ | — | 0,100 | — |
| 6 „ „ „ „ | 0,100 | 0,100 | 0,111 |
| **Zucker im Harn.** | | | |
| Vor der Zuckerzufuhr | (—) | (—) | (—) |
| Nach der „ | (++ +) | (—) | (±) |

[1]) 22 Tage nach der Kastration.

[2]) Vom 3. bis 5. März täglich 1,0 g getrocknete Schilddrüse gefüttert.

[3]) 9 Tage nach der letzten Schilddrüsenzufuhr.

und *Nothmann*[1]) schlugen sogar die Verwendbarkeit der renalen Schwangerschaftsglykosurie für die Frühdiagnose der Schwangerschaft vor, während ihr diagnostischer Wert von *Nürnberger*[2]), *Seitz* und *Jess*[3]) u. a. bezweifelt wurde. Da die Ovarialfunktion in der Schwangerschaft eine gewisse Veränderung erfahren soll, so wäre es nicht ungerechtfertigt, eine Beziehung zu der Funktion der Ovarien zu vermuten.

### a) Nierenschwelle für Traubenzucker.

Bekanntlich vertragen Kaninchen eine ziemlich hohe Hyperglykämie ohne Zuckerausscheidung im Harn. Die Zuckerausscheidung ist nicht nur von der absoluten Höhe des Blutzuckerwertes abhängig, sondern auch von der Dauer der Hyperglykämie. Es ist also nötig, beim Vergleichen der Nierenschwelle den zeitlichen Ablauf sowohl des Blut- als auch Harnzuckers gleichzeitig zu bestimmen.

*Versuch 13.*

*Tabelle XXXII.*

Der zeitliche Ablauf alimentärer Hyperglykämie, dabei wird keine oder nur eine geringe Spur von Zucker durchgelassen (bei normalen Kaninchen).

| Versuchsnummer | 1 (♂) | 2 (♂) | 3 (♂) | 4 (♀) |
|---|---|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 2000 | 2350 | 2080 | 1780 |
| Oral eingeführte Glucose, 20 proz. (ccm) | 100 | 100 | 100 | 88 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,078 | 0,072 | 0,102 | 0,099 |
| 1 Std. nach der Zuckerzufuhr | 0,227 | 0,175 | 0,180 | 0,240 |
| 2 „ „ „ „ | 0,216 | 0,286 | 0,200 | 0,270 |
| 3 „ „ „ „ | 0,185 | 0,172 | 0,280 | 0,239 |
| 4 „ „ „ „ | — | — | 0,160 | 0,195 |
| 5 „ „ „ „ | — | — | 0,124 | — |
| 6 „ „ „ „ | 0,112 | 0,093 | 0,092 | — |
| **Harnbefund.** | | | | |
| Durchschnittl. Tagesharnmenge (ccm) | 260 | 280 | 270 | 200 |
| 6 Std. nach d. Zuckerzufuhr: Menge (ccm) | 40 | 60 | 50 | 50 |
| 6 Std. nach d. Zuckerzufuhr: Zuckerreaktion | (—) | (—) | (±) | (±) |
| 24 Std. nach d. Zuckerzufuhr: Menge (ccm) | 50 | 70 | 30 | 40 |
| 24 Std. nach d. Zuckerzufuhr: Zuckerreakt. | (—) | (—) | (—) | (—) |

Aus diesen Versuchen kann man ersehen, daß bei normalen Kaninchen der maximale Blutzuckerwert 0,20 bis 0,27 Proz. betrug und längere Zeit hindurch bei bestehender Hyperglykämie (über 2 Stunden dauernd hoher Blutzuckerwert von etwa 0,2 Proz.) ohne oder nur mit Spur von Zuckerausscheidung vertragen wurde.

[1]) *Frank* und *Nothmann*, Münch. med. Wochenschr., S. 1433, 1920.
[2]) *Nürnberger*, Deutsch. med. Wochenschr., Nr. 38, 1921.
[3]) *Seitz* und *Jess*, ebendaselbst, Nr. 1, S. 6, 1922.

*Tabelle XXXIII.*

Der zeitliche Ablauf alimentärer Hyperglykämie bei kastrierten Kaninchen. Es findet dabei eine deutliche Zuckerausscheidung statt.

| Versuchsnummer | 1 (♂) | 2 (♂) | 3 (♂) | 4 (♂) | 5 (♀) |
|---|---|---|---|---|---|
| Tage nach der Kastration | 62 | 32 | 61 | 18 | 353 |
| Körpergewicht (g) | 1890 | 2120 | 2700 | 2250 | 2370 |
| Oral eingef. 20 proz. Glucose (ccm) | 50 | 50 | 100 | 50 | 60 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | | | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,081 | 0,088 | 0,073 | 0,099 | 0,108 |
| 1 Std. n. d. Zuckerzufuhr | 0,189 | 0,194 | 0,204 | 0,197 | 0,250 |
| 2 „ „ „ „ | **0,202** | 0,180 | 0,217 | **0,233** | **0,278** |
| 3 „ „ „ „ | 0,194 | **0,216** | **0,239** | 0,156 | 0,223 |
| 4 „ „ „ „ | 0,127 | 0,188 | 0,199 | — | — |
| 5 „ „ „ „ | — | — | — | — | — |
| 6 „ „ „ „ | 0,090 | 0,100 | 0,070 | — | — |
| **Harnbefund.** | | | | | |
| Durchschnittliche Tagesharnmenge (ccm) | 170 | 270 | 230 | 170 | 200 |
| 6 Std. n. d. Zuckerzuf. Menge (ccm) | 53 | 70 | 100 | 100 | 70 |
| 6 Std. n. d. Zuckerzuf. Zuckerreakt. | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) | (+++) |
| 24 Std. n. d. Zuckerzuf. Menge (ccm) | 35 | 100 | 40 | 30 | 30 |
| 24 Std. n. d. Zuckerzuf. Zuckerreakt. | (±) | (—) | (±) | (±) | (+) |
| Zuckermenge im Harn g) (in 24 Std.) | 0,8 | — | 0,9 | 0,2 | — |

Die hier angegebenen Blutzuckerkurven sind bei den kastrierten Kaninchen annähernd gleich den bei normalen, während bei den kastrierten Tieren eine deutliche Zuckerausscheidung hervorgerufen wird. Die Durchlässigkeit der Niere scheint eine mehr oder weniger individuelle Schwankung zu zeigen. Ich habe deshalb an demselben Tiere vor und nach der Kastration den Schwellenwert der Niere für Zucker verglichen, um eine individuelle Schwankung außer acht lassen zu können. (Tabelle XXXIV.)

### b) Phenolsulfonphthaleinausscheidung bei gesunden und kastrierten Kaninchen.

Aus den vorigen Versuchen kann man eine Veränderung der Nierenfunktion nach der Kastration vermuten. Zur weiteren Funktionsprüfung der Niere wählte ich Phenolsulfonphthalein, weil dieses schnell aus der Niere eliminiert und quantitativ einfach bestimmt werden kann.

#### Eigene Versuche.

Das Kaninchen wurde in Rückenlage fixiert und warm zugedeckt, dann führte ich einen *Nelaton*schen Katheter in die Harnblase ein, wobei der Katheter am Penis fest gebunden wurde. Der Katheter wurde dann durch ein Gummirohr mit einem Trichter von etwa 30 ccm Inhalt verbunden, um durch Heben und Senken des Trichters die Blase zu füllen und wieder zu entleeren.

Nach dem Entleeren des Blaseninhalts wurde die Blase einige Male mit körperwarmer physiologischer NaCl-Lösung gespült, und dann dieselbe mit körperwarmer 1 proz. $Na_2CO_3$-Lösung gefüllt. Dann wurde genau

*Tabelle XXXIV.*

Kaninchen Nr. 13 (♂).

| | Vor der Kastration | 18 Tage nach der Kastration |
|---|---|---|
| Körpergewicht (g) | 2350 | 2250 |
| Eingeführte 20proz. Glucose (ccm) | 100 | 50 |
| **Blutzuckergehalt (Proz.).** | | |
| Präformierter Blutzucker | 0,072 | 0,099 |
| 1 Std. nach der Zuckerzufuhr | 0,175 | 0,197 |
| 2 " " " " | 0,236 | 0,233 |
| 3 " " " " | 0,190 | 0,156 |
| 4 " " " " | — | — |
| 5 " " " " | — | — |
| 6 " " " " | 0,093 | — |
| **Harnbefund.** | | |
| Durchschnittliche Tagesharnmenge (ccm) | 270 | 260 |
| 6 Std. nach der Zuckerzufuhr { Menge (ccm) | 40 | 93 |
| 6 Std. nach der Zuckerzufuhr { Zuckerreakt. | (—) | (+++) |
| 24 " " " " { Menge (ccm) | 80 | ? |
| 24 " " " " { Zuckerreakt. | (—) | (±) |
| Zuckermenge im Harn (g) (in 24 Std.) | (—) | 0,9 |

1,0 ccm 6proz. Phenolsulfonphthaleinmononatriumsalzlösung in die Randvene des Ohres eingespritzt. Nach der Injektion wurde der Trichter gehoben und gesenkt, um den ersten Eintritt des Farbstoffs im Harn durch purpurrote Verfärbung des Trichterinhalts bemerken zu können. Nachdem der erste Eintritt desselben nachgewiesen wurde, wurde die Blase mit einem Intervalle von 30 Minuten oder einer Stunde wiederholt mit erwähnter alkalischer Lösung gespült, das Spülwasser wurde in 1-Liter Meßkolben gesammelt und einige Kubikzentimeter 25proz. NaOH-Lösung zugesetzt. Die Farbstoffmenge wurde mittels Kolorimeter von *Rowtree* und *Geraghty* quantitativ bestimmt.

*Versuch 14.*

*Tabelle XXXV.*

Zeitliches Verhältnis der Phenolsulfonphthaleinausscheidung bei acht normalen und sechs kastrierten Kaninchen.

(Maximaler und minimaler sowie durchschnittlicher Wert.)

| | Erster Eintritt des Farbstoffs | 0 bis 30 Min. Proz. | 0 bis 1 Std. Proz. | 1 bis 2 Std. Proz. | 0 bis 2 Std. Proz. |
|---|---|---|---|---|---|
| Normale Kaninchen | 2′ 10″—7′ 5″ (3′ 53″) | 37—85 (68,1) | 65—95 (81,4) | 3—15 (6,2) | 87,6 |
| Kastrierte Kaninchen | 3′ 20″—4′ 50″ (4′ 16″) | 63—82 (42,6) | 8—30 (70,8) | 8—30 (13,8) | 84,6 |

(Zimmertemperatur 26 bis 29° C).

Die Zeit bis zum ersten Eintritt des Farbstoffs und die gesamte Menge des ausgeschiedenen Farbstoffs innerhalb 2 Stunden scheinen bei normalen wie kastrierten Kaninchen annähernd dieselben zu sein, während die

Schnelligkeit der Ausscheidung ziemlich verschieden ist. Bei den kastrierten Kaninchen geht nämlich die Ausscheidung des Farbstoffs in der ersten Stunde langsamer vor sich als bei den normalen, wie obige Tabelle zeigt. Es ist noch nicht festgestellt, welcher Teil der Niere diesen Farbstoff ausscheidet. Auch die Ausscheidung desselben geht nicht immer parallel mit pathologisch-anatomischen Befunden, wie bei der trüben Schwellung der Niere bei Infektionskrankheiten eine schwere Ausscheidungsstörung zustande kommt, während andererseits bei schweren anatomischen Schädigungen der Niere die Ausscheidung manchmal nicht so hochgradig beeinträchtigt ist. Nach *Potter* und *Bell*[1]) geschieht die Ausscheidung dieses Farbstoffs aus den Harnkanälchen, während neuerdings *Kurokawa*[2]) aus seinen Versuchen schließt, daß dieselbe anfangs aus den Glomeruli, später aus den Harnkanälchen erfolgt. Die verlangsamte Ausscheidung bei den kastrierten Kaninchen scheint durch die herabgesetzte Funktion der Harnkanälchen verursacht zu werden. Wie soll man nun die erniedrigte Nierenschwelle für den Traubenzucker nach der Kastration erklären? Vermutlich verursacht die Kastration eine Herabsetzung der Funktion der Harnkanälchen, wenn man voraussetzt, daß der im Blut überschüssig vorhandene Traubenzucker aus den Glomeruli ausgeschieden und teilweise von den Harnkanälchen rückresorbiert wird[3]).

**Zusammenfassung der Versuchsresultate.**

1. Nach der Kastration ist die Durchlässigkeit der Niere für den Traubenzucker leicht gesteigert.
2. Die Phenolsulfonphthaleinausscheidung ist bei kastrierten Kaninchen zeitlich verspätet.

2. *Verhalten der anderen inkretorischen Drüsen nach der Kastration.*

Wie schon erwähnt, kommt nach der Kastration eine Veränderung der anderen inkretorischen Drüsen zustande. Hier werden nur die Gewichtsveränderungen von einigen anderen inkretorischen Drüsen nach der Kastration übersichtlich tabellarisch erwähnt.

Gewicht der inkretorischen Drüsen nach der Kastration.

a) Durchschnittszahl von den männlichen Kaninchen, mit Körpergewicht 2000 bis 2500 g.

| | Kontrolle (g) | Fälle | Kastriert (g) | Fälle |
|---|---|---|---|---|
| Schilddrüse . . . . . | 0,1742 | 15 | 0,2064 | 14 |
| Nebenniere . . . . . | 0,4176 | 16 | 0,5424 | 14 |
| Hypophyse . . . . . | 0,0215 | 14 | 0,0290 | 13 |
| Thymus . . . . . . | 1,03?*) | 15 | 1,886 **) | 13 |

28 bis 125 Tage nach der Kastration.

*) Hauptsächlich aus Fett- und Bindegewebe. — **) Parenchymatös.

[1]) *Potter* und *Bell*, Amer. Journ. med. sc. **109**, 1915.

[2]) *Kurokawa*, Nippon Naika-gakkai-zashi **10**, Nr. 5, S. 353, 1922.

[3]) *Kuga*, Mitt. d. med. Fakult. d. kaiserl. Univ. zu Tokio **24**, 3. H., S. 510, 1920.

b) Durchschnittszahl von den männlichen Meerschweinchen mit Körpergewicht 300 bis 400 g.

| | Kontrolle (g) | Fälle | Kastriert (g) | Fälle |
|---|---|---|---|---|
| Schilddrüse . . . . . | 0,0428 | 14 | 0,0449 | 14 |
| Nebenniere . . . . . | 0,1759 | 14 | 0,2516 | 15 |
| Hypophyse . . . . . | 0,0083 | 12 | 0,0099 | 14 |

22 bis 45 Tage nach der Kastration.

Wie die obigen Tabellen zeigen, wurde eine Gewichtszunahme von Schilddrüse[1]), Nebenniere, Hypophyse und Thymus nach der Kastration konstatiert. Histologische Untersuchungen sprechen gleichfalls für die früheren Angaben. Deswegen begnüge ich mich mit diesen Feststellungen.

Ob die bereits beschriebenen Erscheinungen, die nach der Kastration vorkommen, durch den Ausfall der Keimdrüsen allein oder auch durch die sekundären Veränderungen der anderen endokrinen Drüsen herbeigeführt werden, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

**Schlußfolgerungen.**

1. Der Nüchternwert des Blutzuckers bei Kaninchen erfährt durch die Kastration keine merkliche Schwankung.
2. Es kommt nach der Kastration der geschlechtsreifen Kaninchen eine Herabsetzung der alimentären und parenteralen Zuckertoleranz zustande, welche erst nach etwa 3 Wochen manifest wird und lange Zeit andauert. Diese Erscheinung kommt geschlechtsunspezifisch vor.
3. Die einseitige Samenstrangunterbindung und gleichzeitige Exstirpation des Hodens auf der anderen Seite haben eine Herabsetzung der Zuckertoleranz bei den geschlechtsreifen Kaninchen zur Folge, und dieselbe Erscheinung wird auch nach doppelseitiger Samenstrangunterbindung nachgewiesen.
4. Röntgenbestrahlung der Keimdrüsen hat eine gleiche Herabsetzung der Zuckertoleranz zur Folge wie Kastration.
5. Samenstrangunterbindung sowie Röntgenbestrahlung der Hoden rufen hochgradige Verödung der spermatogenen Zellen hervor, dabei bleiben aber die Sertoli- oder sogenannten Zwischenzellen erhalten, ja sie weisen sogar manchmal eine Wucherung auf. Demzufolge kommt eine Herabsetzung der Zuckertoleranz durch Degeneration der spermatogenen Zellen zustande. Daraus kann man schließen, daß der sperma-

[1]) Bei Menschen (*Tandler* und *Gross*) und Hunden (*Biedl*) wurde eine Verkleinerung der Schilddrüse nach der Kastration beobachtet. Bei weiblichen Kaninchen wurde eine Hypertrophie derselben nachgewiesen (*Engehorn*). Nach *Okintschitz* bedeutet dies nicht eine Hypersekretion, sondern es scheint eine durch Kolloidansammlung (verzögerte Abgabe von Kolloid an Blut und Lymphe) zu sein. Siehe *Biedl*, Innere Sekretion **2**, 271 und *Okintschitz*, Arch. f. Gynäk. **102**, 333, 1914.

togene Anteil des Hodens eine Beziehung zum Kohlehydratstoffwechsel hat.

6. Die herabgesetzte Zuckertoleranz nach der Kastration kann durch Transplantation der Keimdrüsen gewissermaßen wieder erhöht werden, aber die Wirkung der Transplantation dauert nicht lange. Weder Verfütterung von Keimdrüsensubstanz noch Injektion von Keimdrüsenextrakt üben einen Einfluß auf die Zuckertoleranz aus.

7. Es scheint die Glykogenbildung aus Zucker und Zuckermobilisierung aus Glykogen in der Leber bei den kastrierten Kaninchen langsamer vor sich zu gehen als bei den Kontrolltieren.

8. Nach der Kastration kann man keine Veränderung der Menge der Blutamylase nachweisen, und in betreff der Blutglykolyse in vitro wurde eine etwas langsamere Verminderung der Reduktionskraft, wenigstens in den ersten 3 bis 6 Stunden nach der Blutentnahme, konstatiert.

9. Die kastrierten Männchen reagieren wie die kastrierten Weibchen auf Adrenalin mit stärkerer Hyperglykämie.

10. Bei den kastrierten Kaninchen wurde durch intravenöse Diuretininjektion eine stärkere Hyperglykämie nachgewiesen als bei den Kontrolltieren.

11. Durch intravenöse Applikation von Pituitrin wurde eine stärkere Blutzuckersteigerung bei den kastrierten Kaninchen nachgewiesen als bei den Kontrollen.

12. Schilddrüsenfütterung ruft weder bei den normalen noch bei den kastrierten Kaninchen eine merkliche Schwankung des Blutzuckergehaltes in der nüchternen Zeit hervor. Es kommt aber nach Schilddrüsenfütterung bei den normalen Kaninchen eine Herabsetzung der Zuckertoleranz zustande, während bei den kastrierten Kaninchen, bei welchen schon eine herabgesetzte Zuckertoleranz aufzuweisen ist, im Gegensatz zu den normalen durch Schilddrüsenfütterung eine Erhöhung der Zuckertoleranz herbeigeführt wurde.

13. Nach der Kastration wird die Niere gegen Zucker leichter durchlässig. Die Phenolsulfonphthaleinausscheidung ist bei den kastrierten Kaninchen zeitlich verspätet.

14. Es kommen nach der Kastration mannigfaltige Veränderungen an den verschiedenen inkretorischen Drüsen zustande. Es bedarf noch weiterer Forschungen, um festzustellen, ob die oben geschilderten Erscheinungen entweder unmittelbar durch die Keimdrüsen allein bedingt sind oder mittelbar durch die Veränderung der Funktionen der anderen endokrinen Drüsen herbeigeführt werden.

# Beiträge zur Kenntnis der inneren Sekretion der Keimdrüsen.

## II. Mitteilung: Keimdrüsen und respiratorischer Gaswechsel.

Von

**Shiro Tsubura.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität zu Tokio.)

*(Eingegangen am 9. Oktober 1923.)*

**Inhaltsverzeichnis.**



### Einleitung.

Das Verhalten des respiratorischen Gaswechsels nach der Kastration war schon vielfach Gegenstand eingehender Untersuchungen, und es wurde eine Reihe interessanter Versuche veröffentlicht, indem *Curatolo* und *Tarulli*[1]) bei Hündinnen sowie Mäusen und *Popiel*[2]) an Kaninchen eine starke Verminderung des Gaswechsels nach der Kastration feststellten.

---

[1]) *Curatolo* und *Tarulli*, Zentralbl. f. Physiol. 9, 149, 1895.
[2]) *Popiel*, Inaug.-Diss. 1901, zitiert nach *Noorden*, Handbuch d. Path. d. Stoffw., 2. Aufl., 1, 416.

Nach *Loewy* und *Richter*[1]) kam keine Veränderung unmittelbar nach der Kastration zustande, bei der Hündin trat erst nach mehreren (10 bis 15) Wochen eine dauernde Verringerung des $O_2$-Verbrauchs bis 20 Proz. ein. Bei einem männlichen Jagdhund hatte die Kastration ebenfalls eine Herabsetzung des $O_2$-Verbrauchs um durchschnittlich 13,6 Proz. zur Folge, welche schon nach 1½ Wochen deutlich zum Vorschein kam.

Eine Darreichung der Ovarialsubstanz blieb vor und kurz nach der Kastration ohne Einfluß, während dieselbe hingegen einige Monate nach der Kastration einen deutlichen Erfolg sowohl beim weiblichen als auch beim männlichen Tiere hervorzubringen imstande war. Dagegen konnte die Einverleibung der Hodensubstanz den gesunkenen Gaswechsel nur in geringerem Maße heben. *Loewy* und *Richter* erklärten die Abnahme des Gaswechsels durch eine Verminderung der Oxydationsprozesse. *Pächtner*[2]) konnte die Resultate von *Loewy* und *Richter* an Rindern bestätigen. Im Gegensatz zu diesen Befunden stand das Resultat der Versuche von *Lüthje*[3]). Namentlich ergab es in Gas- und Stickstoffwechsel keinen prinzipiellen Unterschied zwischen den kastrierten und nicht kastrierten. Daraus zieht *Lüthje* den Schluß, daß die Keimdrüsen nicht imstande sind, einen spezifischen Einfluß auf den Stoffwechsel auszuüben. Nach der Auffassung *Jaquets*[4]) ist *Lüthjes* Befund nicht genügend, um die betreffende Frage allein zu lösen, denn die Kontrolltiere befanden sich unter abnormen Bedingungen, indem sie ihren natürlichen Bewegungsdrang nicht befriedigen konnten. Gegen die Resultate von *Lüthje* konstatierte *Damiano de Vita*[5]) eine Verminderung des Oxydationsprozesses, mit Abnahme der $CO_2$-Produktion um ein Viertel bis ein Fünftel im Vergleich zu den normalen Werten in seiner Arbeit: „Atmung und Stoffwechsel der seit der Geburt kastrierten Tiere“.

*Zuntz*[6]) führte ähnliche Versuche an vier kastrierten Frauen aus, wie *Loewy* und *Richter*. Er bestätigte in seiner ersten Mitteilung die zunächst fehlende Veränderung nach der Kastration, aber bei seinen weiteren Untersuchungen trat eine ausgeprägte Herabsetzung des respiratorischen Stoffumsatzes längere Zeit nach der Kastration hervor. Beim trägen Gaswechsel der Kastraten war er außerstande, eine Steigerung durch Oophorindarreichung zu erzielen. In einem Falle von traumatischen Eunuchoidismus konstatierten *Loewy* und *Kaminer*[7]) einen niedrigen Gaswechselwert und eine starke gaswechselsteigernde Wirkung der Ovarialpräparate. Neuerdings stellte *Bertschi*[8]) eine Untersuchung über den respiratorischen Stoffwechsel bei kastrierten Kaninchen an und fand keine wesentliche Veränderung im Gaswechsel durch eine Kastration. Subkutane Einverleibung der Hoden -bzw. Ovarialsubstanz blieb nach ihm ohne Wirkung auf den

[1]) *Loewy* und *Richter*, Arch. f. Physiol., Suppl. B., 1899; Berl. klin. Wochenschr., Nr. 50, 1899.

[2]) *Pächtner*, Verh. d. Berl. Physiol. Gesellsch. 1906, zitiert nach *Biedl*, Innere Sekretion 2.

[3]) *Lüthje*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 48, 184, 1902; 50, 268, 1903.

[4]) *Jaquet*, Ergebn. d. Physiol., 1. Jahrg., 1. Abt., S. 537, 1903.

[5]) *Damiano de Vita*, Rif. med. 29, 1065, 1913, zitiert nach *Biedl*.

[6]) *Zuntz*, Verh. d. gynäk. Gesellsch. zu Berlin 8, 7, 1914; Deutsch. Zeitschr. f. Chir. 44, 95, 1908; Arch. f. Gynäk. 96, 188, 1912.

[7]) *Loewy* und *Kaminer*, Berl. klin. Wochenschr. 41, 1123, 1916.

[8]) *Bertschi*, diese Zeitschr. 106, 37, 1920.

Gaswechsel. *Heymans*[1]) konstatierte bei Hähnen eine Verminderung des Gaswechsels um etwa 20 Proz. nach der totalen Kastration. Durch partielle Kastration kam auch eine Verminderung um etwa 15 Proz. zustande, wenn auch die Hähne dabei ihren männlichen Charakter bewahrten.

Wie ersichtlich, gehen die Resultate der Versuche bezüglich der Keimdrüsenwirkungen auf den respiratorischen Gaswechsel ziemlich auseinander, und die bisherigen Versuchsanordnungen scheinen überhaupt ungenügend, um einen sicheren Schluß daraus zu ziehen. Es war meine Aufgabe, die so divergenten Resultate der diesbezüglichen Untersuchungen durch eigene Versuche nochmals zu kontrollieren, um zu einem sicheren Schluß zu gelangen.

Es gibt viele für und gegen sprechende Arbeiten über das Pubertätsdrüsen- und Verjüngungsproblem nach *Steinach*[2]); deshalb will ich diese verwickelte Frage nochmals von Gaswechselstudien aus betrachten.

Ich habe in der vorigen Mitteilung bestätigt, daß eine Darreichung der Schilddrüsensubstanz bei den kastrierten Kaninchen im Gegensatz zu den normalen die Zuckertoleranz verstärkt. Es wäre interessant, diese Beziehungen in Verbindung mit der Zuckerverbrennung im Organismus zu verfolgen, um die oben erwähnte Frage klarzustellen[3]).

## I. Respiratorischer Gaswechsel bei normalen Kaninchen.

### *Eigene Versuche und deren Kritik.*

Als Versuchstiere zog ich immer Kaninchen vor, welche bei uns gewöhnlich mit Bohnenquarktreber und Gemüsen gefüttert wurden. Beim Versuche wurden die Kaninchen in Rückenlage fixiert und die Körperanstrengung dabei möglichst vermieden, mit Watte und Tüchern warm bedeckt, dann tracheotomiert unter Vermeidung der Blutung und Infektion. Die Gasanalyse wurde mittels des *Zuntz-Geppert*schen Respirationsapparates[4]) ausgeführt, indem die Kaninchen mittels der Trachealkanüle mit der Gasuhr verbunden wurden. Nach einer bestimmten Zeit von etwa 10 bis 20 Minuten verhielten sich die Kaninchen meist ruhig, und dann erst wurde der Versuch vorgenommen.

Die Dauer des Versuchs war gewöhnlich 30 bis 60 Minuten. Nach dem Versuche wurde die Hautwunde genäht, welche meist ohne Infektion glatt heilte. Die Kaninchen vertrugen wiederholte Untersuchungen ziemlich gut. Beim Versuche des Gaswechsels muß man mehrere Faktoren sorgfältig berücksichtigen. Die den Gaswechsel beeinflussenden Faktoren untersuchte in unserem Laboratorium mittels der genannten Versuchsmethodik

---

[1]) *Heymans*, Journ. d. physiol. et d. path. gén. **19**, Nr. 3, 323, 1921; zitiert nach Endokrinology **6**, 546, 1922.

[2]) Siehe vorige Mitteilung.

[3]) Die Ergebnisse meiner vorliegenden Untersuchungen wurden am 2. April 1922 in der 19. Sitzung des Japanischen Kongresses für innere Medizin in Kyoto vorgetragen.

[4]) *Zuntz* und *Geppert*, Pflügers Arch. **42** und Abderhaldens Handb. d. biochem Arbeitsmethod. **3**, 1.

Dr. *Kanazawa*[1]), dem ich für seine freundliche Beratung zu großem Danke verpflichtet bin. Aus seinen Versuchen ergab sich folgendes:

a) Das Kaninchen kann durch Fixieren in Rückenlage ziemlich gut von dem Einfluß der Muskelarbeit allein befreit werden, während unter Urethannarkose der Gasaustausch sich gleichzeitig bedeutend mit der Tiefe der Narkose vermindert, wobei dieselbe Verminderung sowohl individuell als auch zeitlich äußerst variabel ist.

b) Außentemperatur wirkt auf den Gaswechsel mit der ansteigenden Temperatur herabsetzend innerhalb 11 bis 29°C, geringe Schwankung der Zimmertemperatur übt keinen besonderen Einfluß aus.

c) Der Einfluß der Nahrungsaufnahme läuft nach 8 Stunden vollkommen ab bei den Kaninchen, welche sich an Bohnenquarktreber und Gemüsen satt gefressen hatten. Der Nüchternwert des Gaswechsels, insbesondere $O_2$-Aufnahme bleibt 60 Stunden lang auf derselben Höhe und dabei ist eine periodische Variation des Gaswechsels nicht bemerkbar.

d) Die Veränderung des Atemvolumens beeinflußt mehr oder weniger die $CO_2$-Produktion, während sie auf die $O_2$-Aufnahme keinen Einfluß ausübt.

e) Wenn mit Berücksichtigung der erwähnten Punkte untersucht wird, so liegt die Schwankung des Gaswechsels innerhalb 10 Proz.

Das Resultat meiner Untersuchung war durchweg gleich seinen Ergebnissen.

In meinem Falle wurden die Tiere immer 12 bis 20 Stunden nach der letzten Fütterung untersucht. Am schwersten, ja fast unmöglich war es, beim Tierversuche den Einfluß der Muskelarbeit völlig auszuschalten, auch wenn die Versuchstiere in der weiteren oder engeren Respirationskammer untergebracht würden. Nach *Zuntz*[2]) ist beim Hunde der Gaswechsel bei vollkommen ruhigem Stehen bedeutend größer als im Liegen, und die Steigerung desselben beträgt nach ihm um 41 Proz. des Ruhewertes. Dies beweist eine Inanspruchnahme der Muskulatur, welche zur Erhaltung der aufrechten Stellung beim Hunde notwendig ist. So ist es nur beim Menschen möglich, die Muskelarbeit vollkommen auszuschalten, wenn die Versuchsperson sich jede willkürliche Bewegung in Bettruhe sorgfältig zu vermeiden bemüht. Was einen Einfluß der Umgebungstemperatur auf den Gaswechsel anbelangt, so wurde von zahlreichen Autoren[3]) festgestellt, daß bei Warmblütern im Gegensatz zu Kaltblütern mit dem Sinken der Umgebungstemperatur der Gaswechsel an Intensität zunimmt. Zum Zwecke des Ausschaltens der Muskelarbeit wurde von einigen Forschern Urethannarkose benutzt, aber es hat sich bei unseren Versuchen herausgestellt, daß das nicht einwandfrei ist. Durch eine Fixierung der Kaninchen in Rückenlage ist man imstande, aktive Bewegung größtenteils auszuschalten und die Tiere sind dabei unter einem gewissen Muskeltonus. Wir müssen also beim Tierversuche damit zufrieden sein, unter einem gewissen Muskeltonus zu beobachten, und es ist wohl angängig, den Gaswechsel bei den behandelten mit demselben bei den normalen Tieren zu vergleichen. Die Brauchbarkeit unserer Versuchsmethodik wird dadurch bestätigt, daß der Gaswechsel bei demselben Kaninchen unter denselben Bedingungen immer fast gleiche Werte zeigte.

[1]) *Kanazawa*, Japan. Zeitschr. f. Verdauungskrankh. **21**, H. 6, S. 360, 1922.

[2]) *Zuntz*, Pflügers Arch. **68**, 191, 1897.

[3]) Zitiert nach Hermanns Handb., 4. Teil, **2**, 414; Sammelreferat: *Jaquet*, l. c.

*Versuch 1a.*

Normales Kaninchen (♂), gefleckt. Minutenvolumen des Gaswechsels pro Kilogramm Körpergewicht (in Kubikzentimeter, °C, 760 mm Hg umgerechnet).

*Tabelle I.*

| Versuchsdatum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemp. | Atemgröße und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient |
|---|---|---|---|---|---|
| 22. V. | 2000 g<br>18,1°<br>39,5° | 1543,0<br>(152—168) | 10,65<br>— | 7,78<br>— | 0,72 |
| 24. V. | 2000 g<br>18,2°<br>39,2° | 1395,6<br>(140—154) | 10,48<br>(— 1,6) | 7,96<br>(+ 3,0) | 0,76 |

In heißem Raume erniedrigt sich die Körpertemperatur der Kaninchen durch eine Fesselung in Rückenlage unbeträchtlich. Dagegen sinkt im kalten Zimmer (10 bis 15°C) die Körpertemperatur ziemlich bedeutend, auch wenn die Tiere warm bedeckt werden, und zwar durch zweistündige Fesselung um 1,0 bis 2,0°C. Mit dem Sinken der Rektaltemperatur um mehr als 1,0°C nimmt der Gaswechsel an Intensität etwas zu.

Hier sei ein Kaninchen aus meinen Versuchsprotokollen erwähnt, welches ziemlich variablen Wert gezeigt hatte.

*Versuch 1b.*

*Tabelle II.*

Normales Kaninchen (♂), weiß *). Minutenvolumen des Gaswechsels pro Kilogramm Körpergewicht (in Kubikzentimeter, 0°C, 760 mm Hg umgerechnet).

| Versuchsdatum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemp. | Atemgröße und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient |
|---|---|---|---|---|---|
| 3. XI. | 1700 g<br>13,0°<br>38,8—36,7° | 799,7<br>(98—103) | 13,22<br>— | 11,20<br>— | 0,85 |
| 4. XI. | 1660 g<br>14,0°<br>38,9—36,7° | 788,5<br>(90—99) | 12,87<br>(— 2,6) | 9,88<br>(— 11,8) | 0,77 |

*) Während des Versuchs verhungert.

Aus dieser Tabelle sei bemerkt, daß die $CO_2$-Produktion ziemlich schwankend ist, während der $O_2$-Verbrauch immer fast auf der gleichen Höhe steht.

Dies kommt manchmal vor, wenn die den Stoffwechsel beeinflussenden Momente nicht streng ausgeschaltet werden. Bei Versuch 1b kommt die kalte Zimmertemperatur in Frage, wobei das Zittern des Körpers und die Veränderung der Atmung auch eine gewisse Rolle spielen.

*Zuntz* und seine Schüler legen den Variationen des $O_2$-Verbrauches einen größeren Wert bei als denjenigen der $CO_2$-Abgabe, um die Schwankung des allgemeinen Stoffwechsels von seiten des respiratorischen Gaswechsels zu beurteilen, denn die mechanischen Ventilationsverhältnisse spielen keine zu vernachlässigende Rolle in der Lunge bei den nur kurz dauernden Versuchen wie von *Zuntz-Geppert*, *Speck*, *Haldane* u. a. Mit Vorsicht und besonderer Berücksichtigung der genannten Beziehungen bestimmte ich die Gasmenge bei den normalen Kaninchen in den warmen und kalten Jahreszeiten. Die in den Tabellen gezeigte Gasmenge wurde immer wie gewöhnlich auf 0°C und 760 mm Hg-Druck trocken umgerechnet und in Kubikzentimeter angegeben.

*Versuch 2a.*

Minutenvolumen des Gaswechsels bei normalen Kaninchen. Zimmertemperatur 9,0 bis 15,0°C.

*Tabelle III.*

| Kaninchen Nr. | Datum | Körpergewicht und Geschlecht | Zimmer- und Rektaltemperatur °C | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (absolut und pro kg) | $CO_2$-Abgabe (absolut und pro kg) | Respirationsquotient |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 weiß | 4. XI. | 1660 g (♂) | 14,1 38,9 | 788,5 (90—99) | 21,37 (12,87) | 16,40 (9,88) | 0,77 |
| 2 braun | 12. XI. | 1850 g (♂) | 12,5 38,7 | 831,9 (87—96) | 19,30 (10,43) | 16,97 (9,17) | 0,88 |
| 4 gefleckt | 17. XI. | 1750 g (♂) | 14,2 39,0 | 666,7 (80—86) | 18,74 (10,78) | 15,60 (8,91) | 0,83 |
| 5 braun | 21. XI. | 2400 g (♂) | 11,6 39,2 | 399,0 (64—76) | 20,32 (8,47) | 15,60 (6,50) | 0,77 |
| 6 gefleckt | 25. XI. | 1850 g (♂) | 9,0 39,4 | 363,0 (79—88) | 17,44 (9,42) | 11,87 (6,41) | 0,67 |
| 7 hasenartig | 26. XI. | 1900 g (♂) | 10,8 39,2 | 532,5 (98—112) | 22,58 (11,88) | 16,61 (8,75) | 0,70 |
| 8 hasenartig | 30. XI. | 2000 g (♀) | 11,5 38,9 | 533,8 (84—88) | 18,55 (9,82) | 13,96 (6,98) | 0,75 |
| 9 rotbraun | 30. XI. | 2200 g (♂) | 12,2 38,2 | 468,5 (60—68) | 19,54 (8,88) | 14,53 (6,60) | 0,74 |
| 10 weiß | 19. IV. | 2000 g (♂) | 13,0 38,5 | 470,0 (75—85) | 20,21 (10,11) | 13,50 (6,75) | 0,67 |
| 11 weiß | 19. IV. | 1850 g (♂) | 13,6 38,5 | 463,7 (76—84) | 19,49 (10,53) | 13,48 (7,29) | 0,70 |

Durchschnittszahl bei gesunden Kaninchen. (Minutenvolumen pro Kilogramm Körpergewicht bei Zimmertemperatur 9,0 bis 15,0°C.) (In Kubikzentimeter.)

| | | |
|---|---|---|
| $O_2$-Aufnahme . . . . . . . . . | 10,27 | (8,47 bis 12,87) |
| $CO_2$-Abgabe . . . . . . . . . | 7,78 | (6,98 „ 9,88) |
| Respirationsquotient . . . . . | 0,75 | (0,67 „ 0,88) |

Körpertemperaturerniedrigung nach zweistündiger Fesselung betrug um etwa 2,0°C (1,5 bis 2,5).

*Versuch 2b.*

Minutenvolumen des Gaswechsels bei normalen Kaninchen.
Zimmertemperatur 18,0 bis 29,0°C.

*Tabelle IV.*

| Kaninchen Nr. | Datum | Körpergewicht und Geschlecht | Zimmer- und Rektaltemperatur °C | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (absolut und pro kg) | $CO_2$-Abgabe (absolut und pro kg) | Respirationsquotient |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 12 gefleckt | 22. V. | 2000 g (♂) | 18,1<br>39,5 | 1543,0<br>(152—166) | 21,29<br>(10,65) | 15,43<br>(7,73) | 0,72 |
| 13 gefleckt | 24. V. | 2300 g (♀) | 18,2<br>39,5 | 1166,6<br>(84—92) | 22,75<br>(9,88) | 19,83<br>(8,62) | 0,87 |
| 14 gefleckt | 30. V. | 2130 g (♂) | 21,5<br>38,5 | 1240,3<br>(52—54) | 15,01<br>(7,04) | 14,64<br>(6,87) | 0,97 |
| 15 schwarz | 2. VI. | 2190 g (♂) | 21,2<br>38,8 | 1433,4<br>(136—138) | 19,78<br>(9,03) | 16,91<br>(7,72) | 0,85 |
| 16 schwarz | 7. VI. | 2040 g (♂) | 21,9<br>39,5 | 887,0<br>(94—116) | 16,59<br>(8,13) | 14,19<br>(6,95) | 0,86 |
| 17 hasenartig | 9. VI. | 2000 g (♂) | 22,3<br>39,7 | 1556,8<br>(132—136) | 18,06<br>(9,03) | 16,35<br>(8,18) | 0,91 |
| 18 grau | 12. VI. | 2300 g (♀) | 22,5<br>39,0 | 1762,0<br>(100—152) | 19,23<br>(8,36) | 17,27<br>(7,51) | 0,90 |
| 19 hasenartig | 24. VI. | 2160 g (♂) | 28,2<br>39,2 | 892,2<br>(138—162) | 18,63<br>(7,69) | 13,38<br>(6,19) | 0,71 |
| 20 hasenartig | 22. VII. | 2200 g (♂) | 27,7<br>40,4 | 786,3<br>(114—132) | 20,60<br>(9,36) | 15,72<br>(7,14) | 0,76 |
| 21 schwarz | 25. IX. | 2090 g (♂) | 22,0<br>39,6 | 1231,6<br>(156—160) | 20,69<br>(9,90) | 13,55<br>(6,48) | 0,65 |

Durchschnittszahl bei den gesunden Kaninchen. (Minutenvolumen pro Kilogramm Körpergewicht bei Zimmtemperatur 18,0 bis 29,0°C.)
(In Kubikzentimeter.)

$O_2$-Aufnahme . . . . . . . . . 8,91 (7,04 bis 10,65)
$CO_2$-Abgabe . . . . . . . . . . 7,34 (6,19 ,, 8,62)
Respirationsquotient . . . . . 0,82 (0,65 ,, 0,97)

Körpertemperaturerniedrigung nach zweistündiger Fesselung betrug um etwa 0,5°C (0 bis 1,0).

Bei niedriger Zimmertemperatur (9,0 bis 15,0°C), wo eine Fesselung in Rückenlage zur Erniedrigung der Körpertemperatur führte, erfolgte eine Zunahme des $O_2$-Verbrauchs um 15 Proz. und eine Zunahme der $CO_2$-Produktion um 6 Proz. im Vergleich zu anscheinend adäquater Temperatur (18,0 bis 29,0°C), wo keine oder geringe Temperaturerniedrigung hervorgerufen wurde. Als Ursache der Zunahme des Gasaustausches könnte man zunächst eine Steigerung des Muskeltonus bzw. das Zittern der Muskeln annehmen, welche beide durch eine Erregung des Wärmezentrums verursacht werden.

Der Gasaustausch des Kaninchens wurde schon von vielen Forschern bestimmt, von denen einige hier zitiert werden.

Minutenvolumen pro Kilogramm (in Kubikzentimeter).

| Autoren | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe |
|---|---|---|
| *Regnault* und *Reiset* | 9,30—11,02 | 8,81—10,55 |
| *Pembrey* und *Gürber* | 10,30—11,08 | 8,00—11,49 |
| *Chvostek* | 10,76—14,71 | 8,80—11,06 |
| *Kanazawa**) | 6,50—14,17 | 5,41—13,07 |
| | (9,30) | (7,81) |
| Eigener Versuch **) | 7,04—12,87 | 6,19— 9,88 |
| | (9,59) | (7,59) |

*) Durchschnittszahl von 45 Fällen, dabei Zimmertemperatur 11,0 bis 29,0°C. — **) Zimmertemperatur 9,0 bis 29,0°C.

Wie man leicht ersieht, stimmen die Resultate unter verschiedenen Autoren annähernd überein.

## II. Respiratorischer Gaswechsel bei kastrierten Kaninchen.

Es besteht noch eine große Meinungsverschiedenheit unter den Forschern darüber, ob die Kastration eine Verminderung des Gaswechsels hervorruft.

Wie vorher bemerkt, bestätigten *Curatolo* und *Tarulli*[1]), *Popiel*[1]), *Loewy* und *Richter*[1]), *Pächtner*[1]), *Damiano de Vita*[1]), *Rowinski*[2]), *Schneider*[2]), *Schebuneff*[2]), *Korentschewsky*[3]) und *Heymans*[4]) eine Verminderung des Gaswechsels, während *Lüthje*[4]) sowie *Bertschi*[4]) keine Verminderung konstatieren konnten. Aber der Befund *Bertschis* sprach weder für *Lüthjes* Resultat noch gegen das Ergebnis von *Loewy* und *Richter*, weil seine Versuche nicht lange dauerten (nur bis zu 3 Wochen nach der Kastration). Daher bleibt es noch übrig, den Streitpunkt zwischen *Loewy* und *Richter* sowie *Lüthje* zu klären, ob in weiterem Verlaufe nach der Kastration eine Veränderung des Gaswechsels eintritt. Der wahrscheinliche Grund für die widersprechenden Resultate besteht darin, daß der respiratorische Gaswechsel von verschiedenen Faktoren beeinflußt wird, so daß die Tierversuche vielfach erschwert werden. Ich habe daher schon im vorigen Kapitel die den Gaswechsel beeinflussenden Faktoren ausführlich betrachtet, um dann eine Veränderung des Gaswechsels nach der Kastration zu bestimmen. Als Versuchstiere wählte ich Kaninchen.

### *Eigene Versuche.*

Die geschlechtsreifen männlichen sowie weiblichen Kaninchen wurden ohne Narkose kastriert, indem man beim Weibchen kleine Schnitte an der seitlichen Bauchwand setzte, und daraus die Eierstöcke entfernte. In bezug auf die Lebensweise, Nahrung usw. wurden die kastrierten und die normalen Tiere unter ganz denselben Bedingungen untersucht. Nach *Loewy* und *Richter* kam eine Verminderung des Gaswechsels erst einige Wochen nach der Kastration zustande. Deshalb habe ich zunächst die Versuche angestellt bei den Kaninchen, bei welchen einige Wochen bis mehrere Monate nach der Kastration vergangen waren.

[1]) l. c.

[2]) *Rowinski*, Diss. St. Petersburg, 1913; *Schneider*, ebendaselbst 1914; *Schebuneff*, ebendaselbst 1914; zitiert nach *Biedl*, Innere Sekretion **2**, 1916.

[3]) *Korentschewsky*, Zeitschr. f. exper. Path. u. Therap. **16**, H. 1. 1914.

[4]) l. c.

*Versuch 3.*

*Tabelle V.* Minutenvolumen bei den kastrierten Kaninchen. Zimmertemperatur 11,0 bis 15,0°C.

| Kaninchen Nr. | Datum | Körpergewicht und Geschlecht | Zimmer- u. Rektaltemperatur °C | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (absolut und pro kg) | $CO_2$-Abgabe (absolut und pro kg) | Respirationsquotient | Tage nach der Kastration |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1<br>weiß | 9. XI. | 1850 g<br>(♂) | 12,4<br>39,2 | 412,9<br>(70—80) | 14,04<br>(7,59) | 11,36<br>(6,14) | 0,80 | 36 |
| 2<br>weiß | 17. XI. | 2000 g<br>(♂) | 14,0<br>38,8 | 597,5<br>(76—112) | 15,30<br>(7,65) | 11,11<br>(5,56) | 0,73 | 45 |
| 3<br>hasenartig | 25. XI. | 1850 g<br>(♂) | 11,1<br>39,3 | 405,0<br>(82—98) | 15,59<br>(7,42) | 11,75<br>(6,35) | 0,75 | 53 |
| 4<br>rotbraun | 27. XI. | 1730 g<br>(♂) | 14,3<br>39,3 | 481,7<br>(72—80) | 14,93<br>(8,65) | 12,04<br>(6,96) | 0,80 | 20 |
| 5<br>weiß | 1. XII. | 2220 g<br>(♀) | 14,2<br>38,9 | 320,7<br>(80—96) | 17,19<br>(7,74) | 11,39<br>(5,13) | 0,66 | 57 |
| 6<br>schwarz | 21. XII. | 2750 g<br>(♂) | 12,0<br>38,3 | 603,9<br>(80—104) | 18,72<br>(6,81) | 14,49<br>(5,27) | 0,77 | 103 |

Durchschnittszahl bei den kastrierten Kaninchen. (Minutenvolumen pro Kilogramm Körpergewicht bei Zimmertemperatur 11,0 bis 15,0°C.)

$O_2$-Aufnahme . . . . . . . . 7,64 (6,81 bis 8,65)
$CO_2$-Abgabe . . . . . . . . . . 5,90 (5,27 „ 6,96)
Respirationsquotient . . . . . 0,76 (0,66 „ 0,80)

*Tabelle VI.* Minutenvolumen bei den kastrierten Kaninchen. Zimmertemperatur 22,0 bis 28,0°C.

| Kaninchen Nr. | Datum | Körpergewicht und Geschlecht | Zimmer- u. Rektaltemperatur °C | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (absolut und pro kg) | $CO_2$-Abgabe (absolut und pro kg) | Respirationsquotient | Tage nach der Kastration |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7<br>schwarz | 30. V. | 2260 g<br>(♂) | 22,5<br>38,7 | 1152,1<br>(84—98) | 16,36<br>(7,24) | 11,08<br>(4,89) | 0,68 | 119 |
| 8<br>h warz | 3. VI. | 2040 g<br>(♂) | 22,5<br>39,2 | 914,4<br>(126—164) | 15,82<br>(7,75) | 12,62<br>(6,18) | 0,80 | 136 |
| 9<br>weiß | 3. VI. | 1800 g<br>(♂) | 22,6<br>39,1 | 1044,0<br>(150—152) | 14,20<br>(7,90) | 7,30<br>(4,05) | 0,51 | 92 |
| 10<br>hasenar g | 22. VII. | 2800 g<br>(♂) | 27,7<br>39,5 | 976,3<br>(120—136) | 19,13<br>(6,82) | 13,25<br>(4,73) | 0,69 | 17 |
| 11<br>hasenartig | 19. IX. | 2400 g<br>(♂) | 25,0<br>39,8 | 1269,0<br>(144—150) | 14,72<br>(6,13) | 11,14<br>(4,64) | 0,76 | 182 |
| 12<br>gefleckt | 25. IX. | 2550 g<br>(♀) | 21,6<br>38,1 | 511,0<br>(96—118) | 17,02<br>(6,67) | 13,49<br>(5,29) | 0,79 | 53 |
| 13<br>hasenartig | 25. IX. | 2600 g<br>(♀) | 22,8<br>38,9 | 814,4<br>(132—138) | 16,70<br>(6,42) | 13,03<br>(5,01) | 0,78 | 54 |

Durchschnittszahl bei den kastrierten Kaninchen. (Minutenvolumen pro Kilogramm Körpergewicht bei Zimmertemperatur 22,0 bis 28,0°C.)

$O_2$-Aufnahme . . . . . . . . 6,99 (6,13 bis 7,90)
$CO_2$-Abgabe . . . . . . . . . . 5,54 (4,05 „ 6,18)
Respirationsquotient . . . . . 0,71 (0,51 „ 0,80)

Die Durchschnittszahl des Gaswechsels pro Minute und Kilogramm Körpergewicht bei den normalen sowie kastrierten Kaninchen wird hier tabellarisch zusammengestellt, um das Verhalten einer Reduktion des Gaswechsels nach der Kastration ersichtlich zu machen.

Minutenvolumen des Gaswechsels pro Kilogramm bei verschiedener Zimmertemperatur.

| | $O_2$-Aufnahme | Differenz Proz. | $CO_2$-Abgabe | Differenz Proz. | Respirationsquotient |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. Unter 15,0° C | | | | | |
| Kontrolle . . . . . | 10,27 | — | 7,78 | — | 0,75 |
| Kastriert . . . . . | 7,64 | —25,6 | 5,90 | —24,2 | 0,76 |
| 2. 18,0 bis 29,0° C | | | | | |
| Kontrolle . . . . . | 8,91 | — | 7,34 | — | 0,82 |
| Kastriert . . . . . | 6,99 | —21,9 | 5,54 | —24,5 | 0,71 |

Aus den erwähnten Versuchen geht hervor, daß die Kastration beim Kaninchen nach dem Ablauf von mehreren Wochen höchstwahrscheinlich eine Verminderung des Gaswechsels zur Folge hat, welche scheinbar längere Zeit dauert. Diese Verminderung des $O_2$-Verbrauchs und der $CO_2$-Produktion kommt geschlechtsunspezifisch vor, wenn auch dazwischen ein quantitativer Unterschied bestehen kann. Aber die Reduktion des Gaswechsels tritt nicht unmittelbar nach der Kastration ein, wie im folgenden Versuche bewiesen ist:

*Versuch 4a.*

Kaninchen Nr. 21 (♂), hasenartig, geschlechtsreif.

*Tabelle VII.*

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (absolut und pro kg) | Differenz Proz. | $CO_2$-Abgabe (absolut und pro kg) | Differenz Proz. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9. VI. | 2000 g<br>22,3°<br>39,7° | 1556,8<br>(130—135) | 18,06<br>(9,03) | — | 16,35<br>(8,18) | — | Lebhafte Begattungsversuche, unruhig, Hoden blutreich in Skrotum |
| 12. VI. | 2000 g<br>24,0°<br>39,4° | 1479,3<br>(100—112) | 19,53<br>(9,77) | + 8,2 | 16,57<br>(8,29) | + 1,3 | Keine Brunstzeichen |
| Am 12. VI. wurden beide Hoden exstirpiert. | | | | | | | |
| 14. VI. | 2000 g<br>24,0°<br>39,4° | 1353,8<br>(104—120) | 17,09<br>(8,55) | — 5,3 | 13,13<br>(6,57) | —19,7 | 2 Tage n. d. Kastration |
| 20. VI. | 1950 g<br>24,2°<br>39,7° | 1320,0<br>(84—100) | 15,84<br>(8,12) | —10,1 | 13,20<br>(6,08) | —17,2 | 8 Tage n. d. Kastration |
| 28. VI. | 1960 g<br>23,2°<br>39,7° | 1015,0<br>(92—98) | 19,60<br>(10,00) | +10,7 | 16,86<br>(8,60) | + 5,1 | 16 Tage n. d. Kastration |

Ich konnte in voriger Mitteilung bestätigen, daß eine Herabsetzung der Zuckertoleranz erst nach etwa 3 Wochen manifest wird und dann lange andauert. Es scheint auch beim Gaswechsel ungefähr dieselbe Beziehung zu bestehen, und zwar kommt die Verminderung des Gaswechsels etwas später als die Herabsetzung der Zuckertoleranz zustande. Wenigstens tritt nach etwa einem Monat eine deutliche Verminderung des Gaswechsels hervor, wie der folgende Versuch zeigt:

*Versuch 4b.*

Kaninchen Nr. 12 (♀), gefleckt, geschlechtsreif.

*Tabelle VIII.*

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen | $O_2$-Aufnahme (Minutenvolumen pro kg) | Differenz Proz. | $CO_2$-Abgabe (Minutenvolumen pro kg) | Differenz Proz. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Vor der Kastration. | | | | |
| 14. VI. | 2300 g<br>24,2°<br>39,9° | 1735,2 | 8,70 | — | 5,06 | — | |
| 22. VI. | 2450 g<br>27,5°<br>40,0° | 1273,3 | 8,15 | — 6,3 | 5,72 | + 13,5 | |
| 24. VII. | 2500 g<br>28,0°<br>39,0° | 1580,4 | 7,84 | — 9,9 | 6,51 | + 9,0 | |
| | | Am 3. VIII. beide Ovarien ohne Narkose exstirpiert. | | | | | |
| | | | Nach der Kastration. | | | | |
| 25. IX. | 2550 g<br>21,6°<br>38,1° | 511,0 | 6,67 | —24,5 | 5,29 | + 4,5 | 53 Tage n. d. Kastration |
| 30. IX. | 2550 g<br>21,6°<br>39,2° | 696,2 | 5,62 | —35,4 | 4,12 | —18,5 | 58 Tage n. d. Kastration |

Die Versuchsresultate meiner geschilderten Untersuchungen stimmen gut überein mit denselben von *Loewy* und *Richter*, sowie anderen, welche eine Verminderung des Gaswechsels konstatierten. Auch spricht das Resultat meiner Untersuchungen nicht gegen den Befund *Bertschis*, welcher direkt nach der Kastration keine Veränderung feststellte.

## III. Einfluß der Samenstrangunterbindung auf den respiratorischen Gaswechsel bei Kaninchen.

Die letzte Veröffentlichung *Steinachs*, „Verjüngung durch experimentelle Neubelebung der alternden Pubertätsdrüse", rief reges Interesse hervor

und ließ eine Reihe von Mitteilungen über die Bedeutung der Zwischenzellen entstehen, welche sich teils gegen die Meinung *Steinachs* ausgesprochen haben[1]). Während früher die *Leydig*schen Zwischenzellen des Hodens im allgemeinen für Bindegewebszellen gehalten wurden, haben zuerst *Bouin* und *Ancel*[1]) den Zwischenzellen einen hormonbildenden Anteil zugeschrieben und sie als „interstitielle Drüse" bezeichnet. Ihre Versuche wurden von *Tandler* und *Gross* sowie *Steinach* mit demselben Resultat wiederholt und der letztere benannte die Zwischenzellen „Pubertätsdrüse". Neuerdings unterzog *Tiedje*[2]) die Unterbindungsbefunde am Hoden einer kritischen Untersuchung und lehnte das Bestehen einer besonderen „Pubertätsdrüse" im Sinne *Steinachs* ab.

Es wäre von großer Bedeutung, zu bestimmen, welcher Anteil des Hodens auf den Gesamtstoffwechsel seine eigentümliche Einwirkung ausüben soll. Auch ist es wichtig, das sogenannte Verjüngungsproblem *Steinachs* nach den Resultaten der Stoffwechselstudien zu kritisieren.

*Loewy* und *Zondek*[3]) waren die ersten, die den Einfluß der Samenstrangunterbindung auf den Stoffwechsel — den respiratorischen Stoffwechsel — untersuchten. Sie stellten an vier Personen Gaswechselversuche vor und nach der *Steinach*schen Operation in Form einer Unterbindung des Samenstrangs an und bestätigten in drei Fällen eine Steigerung des Gaswechsels. Dabei war es merkwürdig, daß eine weitgehende Unabhängigkeit des klinischen Befundes vom Verhalten des Gesamtstoffwechsels bestand. Ihre Versuche dauerten nur einige Monate. Histologische Befunde der unterbundenen Hoden sind nicht erwähnt.

Wie würde sich ein Organismus im Gesamtstoffwechsel verhalten, welcher die degenerierten generativen Zellen und die erhaltenen oder sogar vermehrten Zwischenzellen des Hodens enthält, wenn der generative Anteil keine Einwirkung auf die Sexualfunktion ausüben soll, wie *Steinach* und andere meinten? Um diese Frage zu beantworten, führte ich die folgenden Versuche aus:

### *Versuch 5.*

Geschlechtsreife Kaninchen wurden einseitig kastriert und auf der anderen Seite Vas deferens zwischen den Hoden und Nebenhoden doppelt unterbunden und deren Zwischenstück losgetrennt. In bezug auf die Ernährung und Lebensweise wurden die operierten Kaninchen unter denselben Bedingungen gelassen wie bei den vorigen Versuchen. Bei den operierten Kaninchen wurde erst nach längerer Zeit der Gaswechsel untersucht, wie es in der folgenden Tabelle zusammengefaßt wird.

---

[1]) Siehe I. Mitteilung!

[2]) *Tiedje*, Deutsch. med. Wochenschr., Nr. 13, 1921.

[3]) *Loewy* u. *Zondek*, Deutsch. med. Wochenschr., Nr. 13, S. 349, 1921.

*Tabelle IX.*

Einseitiger Hoden wurde kastriert und Vas deferens auf der anderen Seite ligiert. (Minutenvolumen pro Kilogramm.) (In Kubikzentimeter.)

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Kaninchen Nr. 55, schwarz. | | | | |
| 1.VI. | 2140 g<br>19,5°<br>39,0° | 400,2<br>(64—84) | 5,72 | 4,60 | 0,80 | 163 Tage nach der Operation |
| 5.VII. | 2300 g<br>25,1°<br>39,1° | 636,5<br>(126—148) | 6,14 | 4,87 | 0,79 | 208 Tage nach der Operation |
| | Am 5. VII. wurde der zurückgelassene Hoden exstirpiert. | | | | | |
| 19. IX. | 2400 g<br>25,0°<br>38,9° | 1269,0<br>(144—150) | 6,13 | 4,64 | 0,76 | 76 Tage nach der Exstirpation |
| | | Kaninchen Nr. 56, schwarz. | | | | |
| 2.VI. | 2290 g<br>20,7°<br>38,4° | 544,9<br>(66—72) | 6,68 | 5,16 | 0,78 | 164 Tage nach der Operation |
| 9.VI. | 2300 g<br>22,7°<br>38,5° | 729,6<br>(58—64) | 6,19 | 4,68 | 0,76 | 171 Tage nach der Operation |
| 5.VII. | 2540 g<br>26,5°<br>39,3° | 661,4<br>(70—80) | 6,98 | 5,51 | 0,78 | 208 Tage nach der Operation |
| | Am 5. VII. wurde der zurückgelassene Hoden exstirpiert. | | | | | |
| | | Kaninchen Nr. 52, hasenartig. | | | | |
| 3. VI. | 2100 g<br>22,0°<br>38,8° | 765,4<br>(80—80) | 6,19 | 4,89 | 0,79 | 201 Tage nach der Operation |
| 5. VII. | 2110 g<br>25,5°<br>39,3° | 508,0<br>(114—120) | 5,88 | 4,10 | 0,70 | 234 Tage nach der Operation |
| | Am 5. VII. wurde der zurückgelassene Hoden exstirpiert. | | | | | |

Durchschnittszahl bei den samenstrangunterbundenen Kaninchen. (Minutenvolumen pro Kilogramm bei Zimmertemperatur 19,0 bis 27,0°C.)

| | |
|---|---|
| $O_2$-Aufnahme | 6,25 |
| $CO_2$-Abgabe | 4,83 |
| Respirationsquotient | 0,77 |

## Somatisches und psychisches Verhalten nach der Operation:

Das am leichtesten bemerkbare Zeichen nach der Kastration ist beim Kaninchen, wie schon in voriger Mitteilung beschrieben, eine Atrophie des Penis. In drei erwähnten Fällen trat einige Monate nach der Operation eine Atrophie des Penis hervor. Operierte Kaninchen verhielten sich meist

ruhig, während Kaninchen Nr. 56 sechs Monate nach der Operation noch geschlechtliche Neigung zu Weibchen zeigte.

Jedoch ist es kein Zeichen, daß die Keimdrüse funktioniert, wenn ein kastriertes Kaninchen, welches nach der Geschlechtsreife kastriert wurde, die Begattung versucht.

*Befunde der unterbundenen Hoden.*

Sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch bieten die unterbundenen Hoden ein annähernd übereinstimmendes Bild, wie im folgenden kurz zusammengefaßt ist: Makroskopisch verkleinerten sich die zurückgelassenen Hoden deutlich und fühlten sich derber an, ihre Schnittfläche sah wie muskelartig aus.

Mikroskopischer Befund: Samenkanälchen meist geschrumpft, teilweise leicht erweitert. Normale Schichtung der spermatogenen Zellen nicht mehr sichtbar. An der Kanälchenwand reihten sich vereinzelt zurückgebliebene Spermatogonien und Sertolizellen einschichtig sowie Riesenzellen, und die letzteren befanden sich auch im Kanälchenlumen vereinzelt. Die wandständigen Zellen zeigten teilweise Caryorrhexis. Interstitium mehr oder weniger gewuchert und die sogenannten *Leydig*schen Zellen relativ vermehrt. Keine Regenerationserscheinung des spermatogenen Gewebes bemerkbar.

Aus den ausgeführten Versuchen geht hervor:

1. Mehrere Monate nach der Operation, durch welche der Hoden einerseits kastriert und Vas deferens andererseits zwischen den Hoden und Nebenhoden ligiert werden, kommt bei dem zurückgelassenen Hoden eine degenerative Atrophie des spermatogenen Gewebes zustande, während dabei die sogenannten Zwischenzellen wohlerhalten und sogar vermehrt sind.

2. Die oben erwähnte Operation führte nach mehreren Monaten zur Verminderung des Gaswechsels wie nach der Kastration.

Daraus kann man mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß eine degenerative Atrophie des spermatogenen Gewebes eine Verminderung des Gesamtstoffwechsels nach sich zieht wie nach der Kastration, während dabei die sogenannten *Leydig*schen Zwischenzellen keine große Rolle zu spielen scheinen. So ruft eine Exstirpation des zurückgelassenen Hodens eine Veränderung auf den Gaswechsel nicht mehr hervor. Auch der Einfluß des Hodens auf den Geschlechtsapparat selbst hängt wahrscheinlich von dem spermatogenen Gewebe ab.

### IV. Einfluß der Transplantation bzw. Substitution der Keimdrüsen auf den respiratorischen Gaswechsel bei kastrierten Kaninchen.

Wie oben bereits erwähnt, konnten *Loewy* und *Richter* durch Darreichung von Ovarialsubstanz den gesunkenen Gaswechsel nach der Kastration gewaltig heben sowohl bei dem weiblichen als auch bei dem männlichen Hunde, während sie durch eine Einverleibung von Hodensubstanz keine solche Einwirkung beobachten konnten. Dagegen sprach das Ergebnis *Bertschis*, nach welchem keine Wirkung der Keimdrüsensubstanz nachweisbar war.

Meines Wissens gibt es noch keine experimentelle Untersuchung zur Feststellung, ob eine Transplantation der Keimdrüsen den verringerten Stoffwechsel wiederherzustellen vermag.

Um diesbezügliche Beziehung festzustellen, stellte ich folgende Versuche an:

### *A. Transplantationsversuch.*

#### 1. Hodentransplantation an den kastrierten Männchen.

Ganz frisch und steril geschlechtsreifen Kaninchen entnommener Hoden wurde teilweise dekapsuliert und bei den kastrierten Kaninchen teils an Bauchwandmuskel, teils an das Peritoneum angenäht.

Echte Transplantation des Hodens zu erzielen, ist äußerst schwer, ja sogar unmöglich. Bei meinen Fällen wurden die transplantierten Hoden im Laufe einiger Wochen nekrotisch[1]). Ich benutzte die kastrierten Männchen zum Versuche, bei welchen deutliche Verringerung des Gaswechsels konstatiert wurde.

*Versuch 6a.*

*Tabelle X.*

Hodentransplantation (pro Minute und Kilogramm).

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kastriertes Kaninchen Nr. 105 (♂), schwarz. | | | | | |
| 5. VII. | 2300 g<br>25,1°<br>39,1° | 646,5<br>(120—140) | 6,20 | 4,87 | 0,78 | 123 Tage nach der Kastration |
| 19. IX. | 2400 g<br>25,0°<br>38,9° | 1269,0<br>(144—150) | 6,18<br>(— 1,1) | 4,64<br>(— 4,8) | 0,76 | 199 Tage nach der Kastration |
| | Am 19. IX. wurde ein Hoden transplantiert. | | | | | |
| 25. IX. | 2200 g<br>22,0°<br>38,9° | 1362,0<br>(160—180) | 7,31<br>(+ 17,9) | 5,87<br>(+ 20,5) | 0,83 | 6 Tage nach der Transplantation. Wunde gut geheilt. Transplantierte Stelle unterhühnereigroß angeschwollen; durch Spaltung der Nahtstelle besichtigte man transplantierten Hoden, welcher sich nicht nekrotisch erwies |
| 30. IX. | 2160 g<br>21,5°<br>39,3° | 741,5<br>(146—146) | 7,90<br>(+ 27,4) | 5,83<br>(+ 19,7) | 0,74 | 11 Tage nach der Transplantation. Transplantierter Hoden gut tastbar. Begattungsversuch, sogar auf Männchen bemerkt |
| 2. X. | 2380 g<br>24,5°<br>39,0° | 307,8<br>(84—100) | 6,11<br>(— 1,4) | 4,54<br>(— 6,7) | 0,74 | Wunde entzündlich-eitrig. Transplantierter Hoden nekrotisch abgestoßen |

[1]) Siehe I. Mitteilung!

*Tabelle X.* (Fortsetzung).

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektal-temperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirations-quotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Kastriertes Kaninchen Nr. 106 (♂), schwarz. | | | | |
| 9.VIII. | 2290 g<br>24,7°<br>38,4° | 730,0<br>(65—80) | 6,20 | 4,57 | 0,74 | 159 Tage nach der Kastration |
| | | Am 19. IX. wurde ein Hoden transplantiert. | | | | |
| 25. IX. | 2450 g<br>22,0°<br>38,8° | 785,5<br>(72—72) | 9,20<br>(+ 48,4) | 6,85<br>(+ 49,9) | 0,74 | 6 Tage nach der Transplantation. Wunde gut geheilt. Transplantierter Hoden gut fühlbar |
| 9. X. | 2450 g<br>21,2°<br>39,0° | 240,3<br>(60—64) | 4,48<br>(— 28,0) | 3,21<br>(— 29,8) | 0,72 | Wunde eitrig. Nekrotischer Hoden wurde abgestoßen |
| | | Kastriertes Kaninchen Nr. 99 (♂), schwarz. | | | | |
| 3.VI. | 2040 g<br>22,5°<br>39,2° | 914,4<br>(126—164) | 7,91 | 6,31 | 0,80 | 146 Tage nach der Kastration |
| 9.VIII. | 2100 g<br>27,0°<br>39,1° | 1028,8<br>(118—120) | 6,89<br>(— 12,9) | 5,38<br>(— 14,7) | 0,77 | 213 Tage nach der Kastration |
| | | Am 25. IX. wurde ein Hoden transplantiert. | | | | |
| 30. IX. | 1920 g<br>21,2°<br>39,0° | 490,1<br>(46—116) | 8,22<br>(+ 3,9) | 6,29<br>(0) | 0,76 | 5 Tage nach der Transplantation. Wunde wohl geheilt. Hoden gut tastbar |
| 9. X. | 1940 g<br>20,4°<br>38,7° | 259,4<br>(80—94) | 6,59<br>(— 16,8) | 4,72<br>(— 25,2) | 0,72 | Wunde eitrig. Hoden nekrotisch |

Aus den ausgeführten Versuchen geht hervor, daß sich der gesunkene Gaswechsel bei kastrierten Männchen durch eine Hodentransplantation mehr oder weniger erhöht, daß sich der gesteigerte Gasaustausch durch Nekrose des transplantierten Hodens wieder vermindert.

2. Ovarialtransplantation an den kastrierten Weibchen.

Ganz frisch und steril entnommenes Ovarium des geschlechtsreifen Kaninchens wurde an ihrer Ansatzstelle weit aufgeschnitten, um die Verwachsung zu erleichtern, und an die Bauchwandmuskeln und das Peritoneum des kastrierten Kaninchens angenäht.

*Versuch 6b.*

*Tabelle XI.* Ovarialtransplantation (pro Kilogramm und Minute).

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektal-temperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirations-quotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Kastriertes Kaninchen Nr. 102 (♀), hasenartig. | | | | |
| 25. IX. | 2600 g<br>21,8°<br>38,9° | 814,4<br>(132—138) | 6,42 | 5,01 | 0,78 | 54 Tage nach der Kastration |

*Tabelle XI.* (Fortsetzung).

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Am 26. IX. wurde ein Ovarium transplantiert. | | | | | |
| 30. IX. | 2550 g<br>21,1°<br>39,0° | 1020,7<br>(125—140) | 8,76<br>(+ 36,4) | 6,35<br>(+ 26,2) | 0,72 | 5 Tage nach der Transplantation. Wunde gut geheilt. Ovarium deutlich tastbar |
| 12. IX. | 2620 g<br>21,0°<br>39,0° | 987,5<br>(110—130) | 9,21<br>(+ 43,5) | 6,78<br>(+ 33,1) | 0,73 | 18 Tage nach der Transplantation |

Sektion: Ovarium gut mit Muskelsubstanz verwachsen, sein zentraler Anteil nekrotisch, peripherer Anteil bleibt am Leben. Mikroskopisch: Stromazellen und teilweise degenerierte Follikel.

Aus diesem Resultat geht hervor, daß der gesunkene Stoffwechsel des kastrierten Weibchens durch Ovarialtransplantation ziemlich deutlich erhöht wird.

### 3. Ovarialtransplantation an dem kastrierten Männchen.

*Versuch 6c.*

*Tabelle XII.* (Pro Kilogramm und Minute.)

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kastriertes Kaninchen Nr. 96 (♂), schwarz. | | | | | |
| 20. IX. | 2320 g<br>22,3°<br>39,0° | 420,3<br>(60—70) | 6,07 | 4,78 | 0,79 | 282 Tage nach der Kastration |
| 11. X. | 2400 g<br>21,2°<br>39,0° | 328,6<br>(65—75) | 6,15<br>(+ 1,3) | 4,85<br>(+ 1,4) | 0,79 | 303 Tage nach der Kastration |
| | Am 13. X. wurde ein Ovarium transplantiert. | | | | | |
| 16. X. | 2500 g<br>19,5°<br>38,6° | 696,9<br>(70—78) | 9,28<br>(+ 52,8) | 7,05<br>(+ 47,5) | 0,76 | 3 Tage nach der Transplantation, Wunde gut geheilt und Ovarium deutlich tastbar |
| 22. X. | 2450 g<br>17,0°<br>38,7° | 581,7<br>(46—108) | 8,55<br>(+ 40,8) | 6,69<br>(+ 40,0) | 0,78 | Ovarium tastbar |
| 27. X. | 2450 g<br>19,0°<br>38,6° | 1020,8<br>(96—108) | 9,21<br>(+ 51,7) | 7,92<br>(+ 65,7) | 0,85 | „ „ |
| 28. X. | 2450 g<br>18,3°<br>39,0° | 1322,3<br>(90—112) | 11,71<br>(+ 92,9) | 9,86<br>(+ 95,8) | 0,78 | „ „ |

Sektion: Das transplantierte Ovarium gut mit Muskelsubstanz verwachsen. Mikroskopisch: Zentralteil nekrotisch, peripherer Teil lebend, und zwar Stromazellen und primäre Follikeln (aber primäre Follikel meistens degeneriert).

Aus diesem Versuche geht hervor, daß eine Transplantation des Ovariums auch den gesunkenen Gaswechsel des kastrierten Männchens zu steigern imstande ist.

4. Hodentransplantation an dem kastrierten Weibchen.

*Versuch 6d.*

*Tabelle XIII.* (Pro Kilogramm und Minute.)

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kastriertes Kaninchen Nr. 115 (♀), gefleckt. | | | | | |
| 28. X. | 2250 g<br>18,0°<br>38,4° | 813,8<br>(78—90) | 7,24 | 5,06 | 0,70 | 86 Tage nach der Kastration |
| | Am 3. XI. wurde ein Hoden transplantiert. | | | | | |
| 6. XI. | 2000 g<br>16,3°<br>39,4° | 602,5<br>(72—72) | 9,04<br>(+ 24,9) | 6,69<br>(+ 32,4) | 0,74 | Wunde noch nicht gut geheilt, mit leicht entzündlicher Infiltration. Transplantierter Hoden deutlich tastbar |
| 12. XI. | 2100 g<br>13,0°<br>38,9° | 925,1<br>(70—88) | 10,52<br>(+ 45,3) | 7,21<br>(+ 42,5) | 0,69 | Hoden fast nekrotisch. Hoher Wert des Gaswechsels wegen niedriger Zimmertemperatur? |

Es scheint also, daß die Hodentransplantation den gesunkenen Gaswechsel auch des kastrierten Weibchens mehr oder weniger zu steigern vermag.

*B. Fütterungsversuch.*

*Versuch 7a.*

Verabreichung von Hodensubstanz bei den kastrierten Kaninchen.

*Tabelle XIV.* (Pro Kilogramm und Minute.)

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kaninchen Nr. 104 (♂), schwarz. | | | | | |
| 24. VII. | 2160 g<br>28,2°<br>40,1° | 892,2<br>(138—162) | 8,62 | 6,19 | 0,72 | Ausgesprochene Brunsterscheinungen |

*Tabelle XIV.* (Fortsetzung).

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Am 2. VIII., 2300 g, wurden beide Hoden exstirpiert. | | | | | | |
| 23. X. | 2420 g<br>17,0°<br>38,5° | 615,1<br>(91—112) | 7,72 | 5,94 | 0,77 | 82 Tage n. d. Kastration |
| Vom 23. X. an wurde täglich 1,0 g von getrockneter Hodensubstanz (Parke Davis Co.) mit gewöhnlicher Nahrung verabreicht. | | | | | | |
| 27. X. | 2400 g<br>19,5°<br>39,0° | 968,9<br>(96—112) | 7,15 | 5,05 | 0,71 | 4,0 g (als frische Subst. umgerechnet 40,0 g) verabreicht |
| 3. XI. | 2410 g<br>17,7°<br>39,3° | 597,5<br>(60—72) | 6,98 | 4,75 | 0,68 | 11,0 g (als frische Subst. umgerechnet 110,0 g) verabreicht |
| 12. XI. | 2340 g<br>12,8° *).<br>38,4° | 837,1<br>(66—72) | 8,87 | 7,01 | 0,79 | 20,0 g (als frische Subst. umgerechnet 200,0 g) verabreicht |

*) Zimmertemperatur sehr niedrig!

*Versuch 7b.*

Verabreichung von Ovarialsubstanz bei den kastrierten Weibchen.

*Tabelle XV.*

(Pro Kilogramm und Minute.)

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kastriertes Kaninchen Nr. 94 (♀) braun. | | | | | | |
| 23. X. | 2300 g<br>16,5°<br>38,3° | 447,7<br>(60—72) | 8,50 | 6,46 | 0,75 | 80 Tage n. d. Kastration |
| Vom 23. X. an täglich 0,5 g von getrockneter Ovarialsubstanz — ganzes Ovarium — (Parke Davis Co.) mit gewöhnlicher Nahrung verabreicht. | | | | | | |
| 27. X. | 2250 g<br>19,0°<br>38,6° | 560,9<br>(58—66) | 8,20 | 6,80 | 0,83 | 2,0 g (als frische Subst. umgerechnet 12,0 g) verabreicht |
| 3. X. | 2250 g<br>18,0°<br>39,1° | 625,5<br>(72—75) | 7,45 | 5,01 | 0,67 | 5,5 g (als frische Subst. umgerechnet 33,0 g) verabreicht |

Wie ersichtlich, konnte ich den gesunkenen Gaswechsel der kastrierten Kaninchen durch Verfütterung von getrockneter Keimdrüsensubstanz nicht heben.

Ob die Keimdrüsensubstanz im Darmkanal unwirksam gemacht wurde, oder ob die angewandte Substanz keine wirksame Reizstoffe enthält, dazu bedarf es noch weiterer Forschungen. Zusammenfassend könnte man aus den oben erwähnten Versuchen etwa folgende Schlüsse ziehen:

1. Der gesunkene Gaswechsel nach der Kastration wird durch eine Transplantation der Keimdrüsen mehr oder weniger gehoben, wobei die Keimdrüsen geschlechtsunspezifisch wirken, d. h. eine Hodentransplantation wirkt auch stoffwechselsteigernd auf das kastrierte Weibchen, ebenso wirkt steigernd die Ovarialtransplantation auf den Gaswechsel des kastrierten Männchens. Die stoffwechselsteigernden Wirkungen der transplantierten Keimdrüsen gehen mit deren Nekrotisierung wieder verloren.

2. Eine Fütterung mittels Keimdrüsensubstanz konnte keine Stoffwechselsteigerung erzielen.

## V. Respiratorischer Gaswechsel in der Brunst.

Die Ursache der tierischen Brunsterscheinung wird im allgemeinen darauf zurückgeführt, daß die Keimdrüsen den nervösen Zentren die bestimmten Reizstoffe zuführen. Man vermutet also, daß der Organismus in der Brunstzeit mit dem Keimdrüsenhormon gesättigt worden sei. Wie verhält sich der Gesamtstoffwechsel in der Brunst? Dies Verhalten klar zu machen, ist die Aufgabe meiner folgenden Untersuchungen.

*Versuch 8.*

Gaswechsel bei den Kaninchen, welche ausgesprochene Brunsterscheinungen zeigten (pro Kilogramm und Minute).

*Tabelle XVI.*

| Kaninchen-Nr. | Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektal-temperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 12 (♀) gefleckt | 22. V. | 2350 g<br>18,1°<br>39,6° | 1622,3<br>(100—108) | 7,94 | 7,33 | 0.92 |
| 22 (♀) grau | 15. VI. | 2400 g<br>24,5°<br>39,4° | 1935,9<br>(175—178) | 7,10 | 5,81 | 0.81 |
| 19 (♂) gefleckt | 26. V. | 1950 g<br>18,7°<br>38,5° | 1913,7<br>(160—170) | 8,51 | 6,87 | 0.81 |
| 20 (♂) schwarz | 7. VI. | 2040 g<br>21,9°<br>39,5° | 887,0<br>(94—116) | 8,13 | 6,91 | 0.86 |
| 21 (♂) hasenartig | 9. VI. | 2000 g<br>22,3°<br>39,7° | 1556,8<br>(130—132) | 9,08 | 8.18 | 0.91 |

*Tabelle XVI.* (Fortsetzung).

| Kaninchen-Nr. | Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 23 (♂) schwarz | 22. VII. | 2200 g<br>27,7°<br>39,6° | 1254,6<br>(156—180) | 8,48 | 6,27 | 0,74 |
| 24 (♂) schwarz | 24. VII. | 2160 g<br>28,2°<br>40,0° | 892,2<br>(138—162) | 8,62 | 6,19 | 0,72 |

Durchschnittszahl bei Zimmertemperatur 18,0 bis 29,0° C.

$O_2$-Aufnahme . . . . . . . . . . 8,26
$CO_2$-Abgabe . . . . . . . . . . 6,79
Respirationsquotient . . . . . . 0,82

Stellt man einen Vergleich mit dem Gaswechsel bei den Kaninchen, welche keine Brunsterscheinung zeigten, so ergibt sich:

| | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient |
|---|---|---|---|
| Keine Brunstzeichen . | 8,91 | 7,34 | 0,82 |
| In Brunst . . . . . . | 8,26 | 6,79 | 0,82 |

Nun will ich das Ergebnis des Gaswechsels bei den Kaninchen angeben, welche im Verlaufe eine typische Brunsterscheinung äußerten.

*Tabelle XVII.* (Pro Kilogramm und Minute.)

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Fall 1. | Kaninchen Nr. 12 (♀), gefleckt. | | | | |
| 22. V. | 2350 g<br>81,1°<br>39,6° | 1622,3<br>(100—108) | 7,94 | 7,88 | 0,92 | Scheide livid angeschw., unruhig, kampflustig |
| 24. V. | 2300 g<br>18,2°<br>39,5° | 1166,6<br>(84—92) | 9,89 | 8,48 | 0,87 | Livide Verfärbung vermindert, noch unruhig |
| 14. VI. | 2300 g<br>24,2°<br>39,9° | 1735,2<br>(134—166) | 8,70 | 5,06 | 0,60 | Scheide wenig livid, etwas unruhig |
| 22. VII. | 2450 g<br>27,5°<br>40,0° | 1273,3<br>(150—162) | 8,15 | 5,72 | 0,70 | Nicht mehr brünstig |
| 24. VII. | 2500 g<br>28,8°<br>39,6° | 1580,4<br>(168—192) | 7,86 | 6,51 | 0,83 | Nicht mehr brünstig |

*Tabelle XVII.* (Fortsetzung).

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Fall 2. Kaninchen Nr. 22 (♀), grau. | | | | |
| 12. VI. | 2300 g<br>22,4°<br>39,0° | 1112,4<br>(108—138) | 7,06 | 5,46 | 0,77 | Scheide livid, leichte Brunstzeichen |
| 15. VI. | 2400 g<br>24,5°<br>39,4° | 1935,9<br>(175—178) | 7,10 | 5,81 | 0,81 | Scheide livid, Begattungsversuch auf Männchen |
| | | (Obduktion zeigte hyperämisch angeschwollene Uterus- und Tubenschleimhaut.) | | | | |
| | | Fall 3. Nr. 32 (♂), hasenartig. | | | | |
| 22. V. | 2000 g<br>18,1°<br>39,5° | 1543,0<br>(152—166) | 10,64 | 7,72 | 0,72 | Keine Brunstzeichen |
| 24. V. | 2000 g<br>18,2°<br>38,9° | 1395,6<br>(140—154) | 10,48 | 7,96 | 0,76 | Keine Brunstzeichen |
| 26. V. | 1950 g<br>18,7°<br>38,5° | 1913,7<br>(160—170) | 8,51 | 6,87 | 0,81 | Begattungsversuch sogar a. Männchen, blutreiche Hoden im Scrotum |

Aus den ausgeführten Versuchen kann man ersehen, daß in der Brunst trotz unruhigen Verhaltens der Versuchstiere keine Steigerung des respiratorischen Gaswechsels eintritt, daß sogar eine geringe Reduktion des Gaswechsels zustande zu kommen scheint, während sich dabei die Atemgröße meistenteils mehr oder weniger vermehrt. Diese Ergebnisse sprechen gegen die Annahme, daß in der Brunst — infolge Anhäufung des Keimdrüsenhormons — lebhafter Gasaustausch stattfinden soll.

## VI. Einfluß der Verfütterung von Schilddrüsensubstanz auf den respiratorischen Gaswechsel bei normalen und bei kastrierten Kaninchen.

Bekanntlich wurden schon durch eine Reihe von Untersuchungen eine enorme Steigerung des $O_2$-Verbrauches bei der *Basedow*schen Krankheit [*Magnus-Levy*, *Undeutsch*, *Salmon* u. a.[1])] und eine deutliche Verminderung des Gasaustausches bei dem Myxödem nachgewiesen [*Magnus-Levy* u. a.[1])].

Die Schilddrüseneingabe wirkt auch deutlich stoffwechselerhöhend bei Menschen und Tieren [*Thiele* und *Nehring*, *Stüve*, *Voit*, *Bloch* u. a.[1])], während nach *Magnus-Levy*[1]) die Wirkung der Schilddrüsensubstanz, ausgenommen das Myxödem, nicht so ausgeprägt und konstant zu sein scheint.

[1]) Siehe *Noorden*, Handb. d. Path. d. Stoffw. und Ergebn. d. Physiol., 1. Jahrg., 1. Abt., 1903; *Jaquet*, Der respiratorische Gaswechsel.

Zweifellos ist die Schilddrüse ein wichtiges Organ, welches eine hervorragende Rolle beim Gesamtstoffwechsel spielt.

Die Wechselwirkung zwischen Schild- und Keimdrüsen wurde schon klinisch und auch experimentell vielfach erforscht, aber ohne bestimmte Erfolge. Bei der Stoffwechseluntersuchung über den N- und Gaswechsel behauptete *Korentschewky*[1]), daß gegenseitig fördernde Einflüsse zwischen beiden Drüsen vorhanden sind. Nach seiner Ansicht könnte vielleicht eine Herabsetzung der Schilddrüsenfunktion nach der Kastration erwartet werden. Also wäre es interessant, zu verfolgen, welche Einwirkung die Schilddrüsenfütterung auf den verminderten Gasumsatz der kastrierten Tiere ausübt. Meines Wissens ist diese Frage noch nicht erforscht, deshalb habe ich die folgenden Versuche angestellt:

*Versuch 9a.*

*Tabelle XVIII.* Bei den normalen Kaninchen (pro Kilogramm und Minute.)

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kaninchen Nr. 6 (♂), gefleckt. | | | | | | |
| 25. XI. | 1850 g<br>9,3°<br>39,4° | 363,0<br>(78—88) | **9,48** | **6,36** | 0,67 | Vor der Eingabe |
| Um 3 Uhr nachmittags 25. XI. 60 ccm von 3 proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | | |
| 26. XI. | 1830 g<br>10,2°<br>39,0° | 516,7<br>(76—86) | **11,85**<br>(+20,3) | **7,76**<br>(+22,0) | 0,68 | |
| Kaninchen Nr. 8 (♂), hasenartig. | | | | | | |
| 26. XI. | 1900 g<br>10,8°<br>39,2° | 532,5<br>(98—112) | 11,88 | 8,75 | 0,70 | Vor der Eingabe |
| Um 12 Uhr vormittags 26. XI. 100 ccm von 3 proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | | |
| 28. XI. | 1900 g<br>10,5°<br>39,3° | 675,9<br>(106—132) | **18,90**<br>(+17,0) | **10,24**<br>(+17,0) | 0,74 | Erweiterung d. Lidspalte, Protrusio bulbi deutlich, Kot weich geformt |
| 29. XI. | 1810 g<br>11,8°<br>39,1° | 859,5<br>(116—128) | **12,34**<br>(+3,9) | **8,73**<br>(0) | 0,71 | |
| 1. XII. | 1650 g<br>13,5°<br>39,8° | 632,0<br>(112—121) | **15,32**<br>(+28,8) | **11,11**<br>(+26,9) | 0,72 | Augensymptome wurden undeutlich |
| Kaninchen Nr. 9 (♀), hasenartig. | | | | | | |
| 30. XI. | 2000 g<br>11,5°<br>38,9° | 553,8<br>(84—88) | **9,28** | **6,98** | 0,75 | Vor der Eingabe |
| Um 5 Uhr nachmittags 26. XI. 100 ccm von 3 proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | | |

[1]) *Korentschewsky*, l. c.

*Tabelle XVIII.* (Fortsetzung).

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. XII. | 1900 g<br>11,1°<br>39,9° | 394,2<br>(120—130) | 10,11<br>(+8,9) | 6,99<br>(0) | 0,69 | |
| 2. XII. | 1700 g<br>10,7°<br>39,5° | 796,8<br>(68—76) | 13,15<br>(+41,7) | 9,14<br>(+30,9) | 0,68 | |
| 3. XII. | 1550 g<br>10,1°<br>39,6° | 866,5<br>(72—74) | 14,87<br>(+60,2) | 10,29<br>(+47,4) | 0,69 | |

Aus den obigen Versuchen geht hervor, daß bei den normalen Kaninchen die Schilddrüsenfütterung den Gaswechsel, besonders den $O_2$-Verbrauch, bedeutend zu erheben imstande ist.

*Versuch 9b.*

Bei den kastrierten Kaninchen (pro Kilogramm und Minute).

*Tabelle XIX.*

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kastriertes Kaninchen Nr. 7 (♂), hasenartig. | | | | | |
| 25. XI. | 1850 g<br>11,1°<br>39,3° | 405,0<br>(82—98) | 8,65 | 6,96 | 0,80 | 53 Tage nach der Kastration |
| | Um 3 Uhr nachmittags 25. XI. 60 ccm von 3 proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | |
| 26. XI. | 1730 g<br>11,5°<br>39,8° | 337,8<br>(80—90) | 9,58<br>(+10,1) | 6,92<br>(0) | 0,73 | |
| | Um 12 Uhr mittags 50 ccm von 3 proz. Emulsion von getrockneter Schilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | |
| 28. XI. | 1600 g<br>10,0°<br>39,4° | 342,8<br>(80—88) | 10,60<br>(+22,5) | 7,71<br>(+8,9) | 0,73 | |
| 29. XI. | Schwäche! | | | | | |
| | Kastriertes Kaninchen Nr. 11 (♂), weiß. | | | | | |
| 1. XII. | 2220 g<br>14,2°<br>38,9° | 320,7<br>(80—96) | 7,74 | 5,18 | 0,66 | 57 Tage nach der Kastration |
| | Um 5 Uhr nachmittags 1. XII. 100 ccm von 3 proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | |

*Tabelle XIX.* (Fortsetzung).

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2. XII. | 2160 g<br>11,6°<br>39,5° | 963,5<br>(84—106) | 10,41<br>(+34,5) | 6,88<br>(+34,1) | 0,66 | Kot weich |
| 3. XII. | 1900 g<br>9,5°<br>39,5° | 1184,4<br>(108—112) | 9,72<br>(+25,5) | 7,60<br>(+48,1) | 0,78 | Leichte Diarrhöe |

Wie ersichtlich, wirkt die Schilddrüsensubstanz auch bei den kastrierten Kaninchen gaswechselsteigernd, und dabei erhöht sich der $O_2$-Verbrauch bei den kastrierten Kaninchen fast bis zur normalen Größe. Wie oben gezeigt, steigert sich der $O_2$-Verbrauch der normalen Kaninchen durch Schilddrüsenfütterung übernormal, während bei den kastrierten Kaninchen, bei welchen sich der verminderte Gaswechsel vorfand, durch Schilddrüsenfütterung der $O_2$-Verbrauch bis zur Norm zurückgebracht wird.

---

Nach *Ascher* und *Ruchti*[1]) kommt eine deutliche Abnahme des Gaswechsels kurz nach der Thyreoidektomie zustande. *Korentschewsky* und seine Schüler bestätigten, daß bei den thyreoidektomierten Kaninchen durch Kastration eine Verminderung des Gaswechsels nicht mehr vorkommt. Wie verhält sich in dieser Beziehung der Gaswechsel der kastrierten Kaninchen nach Thyreoidektomie? Um diese Frage zu beantworten, stellte ich folgenden Versuch an:

*Versuch 10.*

Thyreoidektomie bei kastrierten Kaninchen (pro Kilogramm und Minute).

*Tabelle XX.*

| Datum | Körpergewicht, Zimmer- und Rektaltemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme (Schwankung) Proz. | $CO_2$-Abgabe (Schwankung) Proz. | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Kastriertes Kaninchen Nr. 75 (♂), schwarz. | | | | | |
| 14. X. | 2260 g<br>18,5°<br>33,0° | 684,6<br>(102—125) | 7,51 | 6,84 | 0,91 | 284 Tage nach der Kastration |
| | Am 14. X. Thyreoidektomie. | | | | | |
| 22. X. | 2120 g<br>17,0°<br>37,3° | 302,7<br>(78—78) | 6,90<br>(—8,1) | 5,12<br>(—25,1) | 0,75 | 8 Tage nach der Thyreoidektomie |

[1]) *Ascher* und *Ruchti*, diese Zeitschr. **105**, 1, 1920.

Aus dem obigen Versuche kann man schließen, daß beim kastrierten Kaninchen durch Thyreoidektomie eine starke Abnahme des Gaswechsels nicht mehr stattfindet.

## VII. Einfluß der Traubenzuckerzufuhr auf den respiratorischen Gaswechsel bei normalen und bei kastrierten Kaninchen, insbesondere deren Einwirkung nach Einverleibung der Schilddrüsensubstanz.

Ich habe in der vorigen Mitteilung erwähnt, daß bei den kastrierten Kaninchen im Gegensatz zu den normalen durch Schilddrüsenfütterung eine Erhöhung der Zuckertoleranz erfolgt. Ich will hier diese scheinbar konträre Erscheinung der kastrierten Kaninchen gegen die normalen durch eigene Versuche erklären. Zur Genese der Toleranzherabsetzung der normalen Tiere für Zucker nach Schilddrüsenfütterung können hauptsächlich zweierlei Vorgänge in Betracht kommen, erstens nämlich eine gestörte Assimilation des Zuckers, zweitens eine ungenügende Oxydation desselben.

Experimentell wurde schon von vielen Autoren [*Cramer* und *Krause*[1]), *M. Parhon*[2]), *Kuriyama*[3]) u. a.] ein Glykogenschwund in der Leber nach Schilddrüseneingabe nachgewiesen.

Nach der Ansicht von *Cramer* und *Krause* soll der Glykogenschwund in der Leber nicht eine Folge der vermehrten Kohlehydratverbrennung, sondern eine Folge der Hemmung der glykogenbildenden Funktion der Leber sein. Nach *Bertram Sanger*[4]) beruhen die bei *Basedow*scher Krankheit so häufig vorhandene Hyperglykämie und niedrige Zuckertoleranz sehr wahrscheinlich nicht auf der mangelhaften Kohlehydratverbrennung in den Geweben, sondern auf einer verminderten Speicherungsfähigkeit der Leber. Aber bevor man die Herabsetzung der Zuckertoleranz nach Schilddrüseneinfuhr durch eine Hemmung der glykogenbildenden Funktion der Leber allein erklärt, muß man die Störung der Zuckerverbrennung im Organismus nach Schilddrüseneingabe ausschließen. Wie allgemein bekannt, hat die Verbrennung von Kohlehydrat eine Steigerung des respiratorischen Quotienten zur Folge [*Laulanie*, *Falloise* und *Dubois*, *Hanriot* und *Richet* u. a.[5])], somit kann man bei Steigerung des respiratorischen Quotienten eine Zuckerverbrennung im Organismus vermuten. Wie früher bemerkt, können wir bei unserer Versuchsmethode ohne weiteres aus dem respiratorischen Quotienten allein die Zuckerverbrennung im Organismus nicht beurteilen, weil der respiratorische Gaswechsel durch verschiedene Momente variiert wird. Um diese möglichst auszuschalten, benutzte ich zum Ver-

---

[1]) *Cramer* and *Krause*, Proc. of the Royal Society of London **86**, 550. 1913; zitiert nach *Biedl*.

[2]) *Parhon*, Journ. d. Physiol. et d. Path. gén. **15**, 75, 1913; zitiert nach *Biedl*.

[3]) *Kuriyama*, l. c.

[4]) *J. Bertram Sanger*, Proc. of soc. of exper. biol. a. med. **18**, Nr. 4. S. 117, 1921; zitiert Kongreßzentralblatt **28**, H. 3, 1922.

[5]) Siehe Ergebn. d. Physiol. 1903; *Jaquet*, Der respiratorische Gaswechsel.

suche nur Kaninchen, welche sich beim Versuche ganz ruhig verhielten und bei wiederholten Untersuchungen fast übereinstimmende Werte des Gasaustausches zeigten. Auf Grund meiner Versuche kann ich noch nicht mit Sicherheit behaupten, aber wohl vermuten, wie sich die Zuckerverbrennung im Organismus verhält.

*Versuch 11.*

*A. Einfluß der Traubenzuckerzufuhr auf den respiratorischen Quotienten.*

a) Bei den normalen Kaninchen.

1 Stomachale Zufuhr von Zucker (pro Kilogramm und Minute).

*Tabelle XXI.*

| Körpergewicht, Zimmertemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | Dauer des Versuchs | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kaninchen Nr. 21 (♂), hasenartig. Versuchsdatum 9. VI. | | | | | | |
| 2000 g 22,4° | 1556,8 (130—132) | 18′ 55″ | 9,03 | 8,18 | 0,91 | Brunst |
| Um 11 Uhr 20 Min. vormittags 5,0 g von Traubenzucker in 20 Proz. Lösung pro Kilogramm in den Magen eingeführt. | | | | | | |
| — | 1574,2 (132—140) | 1p 22′ bis 1p 41′ | 9,12 | 8,98 | 0,98 | |
| Kaninchen Nr. 22 (♀), grau. Versuchsdatum 12. VI. | | | | | | |
| 2300 g 22,8° | 1112,4 (108—138) | 46′ 10″ | 7,06 | 5,46 | 0,77 | Brunst |
| Um 0 Uhr 15 Min. nachmittags 5,0 g von Traubenzucker pro Kilogramm in 20 Proz. in den Magen eingeführt. | | | | | | |
| — | 1135,6 (94—100) | 2p 13′ bis 2p 59′ | 7,01 | 5,83 | 0,83 | |

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß sich der respiratorische Quotient bei den normalen Kaninchen durch stomachale Zufuhr des Traubenzuckers von 5,0 g pro Kilogramm Körpergewicht mehr oder weniger steigert.

2. Subkutane Einverleibung von Zucker.

| Körpergewicht, Zimmertemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | Dauer des Versuchs | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kaninchen Nr. 64 (♂), grau. Versuchsdatum 16. X. | | | | | | |
| 2100 g 19,2° | 645,5 (84—112) | 47′ | 8,37 | 6,15 | 0,73 | |
| Um 2 Uhr 13 Min. nachmittags 3,0 g von Traubenzucker pro Kilogramm in 10 Proz. subkutan injiziert. | | | | | | |
| — | 314,6 (60—66) | 3p 47′ bis 4p 34′ | 8,39 | 6,44 | 0,77 | |

| Körpergewicht, Zimmertemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | Dauer des Versuchs | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kaninchen Nr. 63 (♀), braun. Versuchsdatum 13. X. | | | | | | |
| 2250 g 19,0° | 659,8 (66—84) | 45′ | 8,09 | 6,24 | 0,77 | |
| Um 3 Uhr nachmittags 3,0 g von Traubenzucker pro Kilogramm in 10 Proz. subkutan injiziert. | | | | | | |
| — | 611,1 (66—66) | 3p 34′ bis 4p 2′ | 8,40 | 6,79 | 0,81 | |

Durch subkutane Einverleibung des Traubenzuckers von 3,0 g pro Kilogramm konnte zwar mehr oder weniger eine Steigerung des respiratorischen Quotienten hervorgerufen werden, aber es schien im Vergleich mit stomachaler Darreichung desselben weniger ausgeprägt zu sein.

### b) Bei kastrierten Kaninchen.

#### 1. Stomachale Zufuhr von Zucker.

| Körpergewicht, Zimmertemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | Dauer des Versuchs | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kastriertes Kaninchen Nr. 50 (♂), schwarz. Versuchsdatum 31. V. | | | | | | |
| 2250 g 21,3° | 1133,0 (76—80) | 9a 51′ bis 10a 20′ | 7,20 | 6,04 | 0,84 | 89 Tage nach der Kastration |
| Um 10 Uhr 50 Min. vormittags 5,0 g pro Kilogramm von 20 Proz. Traubenzucker in den Magen eingeführt. | | | | | | |
| — | 534,4 (72—76) | 0p 55′ bis 1p 47′ | 7,36 | 6,72 | 0,91 | |

Beim kastrierten Kaninchen ruft auch eine stomachale Eingabe des Traubenzuckers von 5,0 g pro Kilogramm mehr oder weniger eine Steigerung des respiratorischen Quotienten hervor. Ob bei den kastrierten Kaninchen eine träge Verbrennung des Zuckers vor sich geht, konnte durch meine Versuche nicht festgestellt werden.

#### 2. Subkutane Einverleibung von Zucker.

| Körpergewicht, Zimmertemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | Dauer des Versuchs | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kastriertes Kaninchen Nr. 55 (♂), schwarz. Versuchstag 14. X. | | | | | | |
| 2260 g 18,5° | 684,6 (102—125) | 43′ | 7,51 | 6,85 | 0,91 | 267 Tage nach der Kastration |
| Um 0 Uhr 25 Min. nachmittags 3,0 g pro Kilogramm von 10 Proz. Traubenzucker subkutan injiziert. | | | | | | |

| Körpergewicht, Zimmertemperatur | Atemvolumen und (Atemzahl) | Dauer des Versuchs | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| — | 382,4 (72—72) | 0p 55' bis 2p 5' | 7,26 | 5,63 | 0,78 | |

Kastriertes Kaninchen Nr. 104 (♀), braun. Versuchstag 4. VIII.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2310 g 18,7° | 398,6 (63—84) | 76' | 6,97 | 5,50 | 0,78 | 71 Tage nach der Kastration |

Um 2 Uhr 3 Min. nachmittags 3,0 g pro Kilogramm von 10 Proz. Traubenzucker subkutan injiziert.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| — | 374,8 (66—78) | 2p 40' bis 3p 55' | 7,07 | 5,58 | 0,79 | |

Wie ersichtlich, konnte ich eine Steigerung des respiratorischen Quotienten durch subkutane Einverleibung des Zuckers von 3,0 g pro Kilogramm bei den kastrierten Kaninchen nicht erreichen. Ob es sich um Versagen der Verbrennung des subkutan eingeführten Zuckers bei den kastrierten Kaninchen handle, bedarf noch weiterer Untersuchungen.

*B. Einfluß des Traubenzuckers auf den respiratorischen Quotienten nach Schilddrüsenfütterung.*

*Tabelle XXII.* (Pro Kilogramm und Minute.)

| Datum | Körpergew. (g), Zimmer- und Rektaltemp. (°C) | Dauer des Versuchs | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|

a) Bei den normalen Kaninchen.

Kaninchen Nr. 8 (♂), hasenartig.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 26. XI. | 1900 10,8 39,2 | 10a bis 10a 54' | 532,5 (98—112) | 11,88 | 8,75 | 0,70 | |

Um 0 Uhr nachmittags 100 ccm von 3 proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 28. XI. | 1900 10,5 39,5 | 1p 5' bis 1p 51' | 675,9 (106—132) | 13,90 | 10,24 | 0,74 | |

Um 3 Uhr 35 Minuten nachmittags 10,0 g Traubenzucker (20 Proz.) in den Magen eingeführt.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | — — — | 3p 40' bis 4p 19' | 666,9 (140—144) | 10,75 | 8,42 | 0,78 | |
| 29. XI. | 1810 11,8 39,1 | 0p bis 0p 34' | 859,5 (116—128) | 12,34 | 8,73 | 0,71 | Erweiterung der Lidspalte, Protrusio bulbi, Kot weich |

Um 2 Uhr 15 Minuten nachmittags 10,0 g Traubenzucker (50 Proz.) subkutan injiziert.

*Tabelle XXII* (Fortsetzung).

| Datum | Körpergew. (g), Zimmer- und Rektaltemp. °C | Dauer des Versuchs | Atemvolumen und (Atemzahl) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | —<br>— | 2p 53′ bis<br>3p 30′ | 878,2<br>(100—104) | 12,47 | 9,48 | 0,76 | |
| | —<br>— | 3p 40 bis<br>4p 15′ | 835,3<br>(98—118) | 13,01 | 9,71 | 0,74 | |
| Kaninchen Nr. 9 (♀), hasenartig. | | | | | | | |
| 30. XI. | 2000<br>11,5<br>38,9 | 10a bis<br>10a 55′ | 553,8<br>(84—88) | 9,28 | 6,98 | 0,75 | |
| Um 5 Uhr nachmittags 100 ccm von 3 proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | | | |
| 1. XII. | 1900<br>11,1<br>39,9 | 9 40′ bis<br>11a 20′ | 394,2<br>(120—130) | 10,11 | 6,99 | 0,69 | |
| 2. XII. | 1700<br>10,7<br>39,5 | 10a bis<br>10a 37′ | 796,8<br>(68—76) | 13,15 | 9,14 | 0,68 | |
| Um 0 Uhr 15 Minuten nachmittags 10,0 g von Traubenzucker in 20 Proz. in den Magen eingeführt. | | | | | | | |
| | —<br>12,3<br>39,9 | 1p 15′ bis<br>1p 47′ | 902,3<br>(80—82) | 11,36 | 9,92 | 0,87 | Diarrhöe |
| 3. XII. | 1550<br>10,1<br>39,6 | 10a 50′ bis<br>11a 25′ | 886,5<br>(72—74) | 14,87 | 10,29 | 0,69 | |
| Um 1 Uhr nachmittags 10,0 g Traubenzucker (50 Proz.) subkutan injiziert. | | | | | | | |
| | —<br>12,1<br>39,7 | 2p bis<br>2p 39′ | 740,3<br>(68—78) | 12,70 | 9,26 | 0,72 | |
| Kaninchen Nr. 10 (♂), rotbraun. | | | | | | | |
| 30. XI. | 2220<br>12,2<br>38,2 | 11a bis<br>11a 58′ | 468,5<br>(60—68) | 8,89 | 6,60 | 0,74 | Brunst |
| Um 5 Uhr nachmittags 100 ccm von 3 proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | | | |
| 1. XII. | 2110<br>11,7<br>39,6 | 11a 30′ bis<br>0a 42′ | 378,2<br>(74—76) | 10,07 | 6,92 | 0,69 | Kot noch geformt |
| 2. XII. | 1950<br>11,5<br>39,6 | 0p bis<br>0p 34′ | 884,7<br>(59—68) | 9,45 | 6,17 | 0,65 | Kot weich |
| Um 2 Uhr 5 Minuten nachmittags 10,0 g Traubenzucker (50 Proz.) subkutan injiziert. | | | | | | | |
| | —<br>12,2<br>39,5 | 3p 5′ bis<br>3p 45′ | 827,2<br>(56—60) | 10,01 | 7,51 | 0,74 | |

*Tabelle XXII.* (Fortsetzung).

| Datum | Körpergew. (g) Zimmer- und Rektaltemp. °C | Dauer des Versuchs | Atemvolumen und (Atempause) | $O_2$-Aufnahme | $CO_2$-Abgabe | Respirationsquotient | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| b) Bei den kastrierten Kaninchen. | | | | | | | |
| Kaninchen Nr. 7 (♂), hasenartig. | | | | | | | |
| 25. XI. | 1850<br>11,1<br>39,3 | 10ᵃ bis<br>11ᵃ 12′ | 405,0<br>(82—98) | 8,65 | 6,96 | 0,80 | 53 Tage nach der Kastration |
| Um 3 Uhr nachmittags 60 ccm von 3proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | | | |
| 26. XI. | 1730<br>11,5<br>39,8 | 10ᵃ bis<br>11ᵃ 26′ | 337,8<br>(80—90) | 9,53 | 6,92 | 0,73 | |
| Um 0 Uhr nachmittags 50 ccm von 3proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | | | |
| 28. XI. | 1600<br>10,0<br>39,4 | 11ᵃ bis<br>0ᵖ 26′ | 342,8<br>(80—88) | 10,60 | 7,71 | 0,73 | |
| Um 2 Uhr 5 Minuten nachmittags 10,0 g Traubenzucker (20 Proz.) in den Magen eingeführt. | | | | | | | |
| | —<br>—<br>— | 3ᵖ 10′ bis<br>4ᵖ 12′ | 565,1<br>(80—83) | 12,54 | 10,84 | 0,86 | |
| Kaninchen Nr. 11 (♀), weiß. | | | | | | | |
| 1. XII. | 2220<br>14,2<br>38,9 | 11ᵃ bis<br>0ᵖ 24′ | 320,7<br>(80—96) | 7,74 | 5,13 | 0,66 | 57 Tage nach der Kastration |
| Um 5 Uhr nachmittags 100 ccm von 3proz. wässeriger Emulsion von getrockneter Rinderschilddrüse in den Magen eingeführt. | | | | | | | |
| 2. XII. | 2110<br>11,6<br>39,5 | 10ᵃ bis<br>10ᵃ 32′ | 963,5<br>(84—106) | 10,41 | 6,88 | 0,66 | Kot weich |
| 3. XII. | 1900<br>9,5<br>39,5 | 10ᵃ bis<br>10ᵃ 31′ | 1184,4<br>(108—112) | 9,72 | 7,60 | 0,78 | Leichte Diarrhöe |
| Um 11 Uhr 50 Minuten vormittags 10,0 g Traubenzucker (20 Proz.) in den Magen eingeführt. | | | | | | | |
| | —<br>—<br>— | 0ᵖ 50′ bis<br>1ᵖ 18′ | 1082,6<br>(120—126) | 10,12 | 8,20 | 0,81 | |

Aus den oben erwähnten Versuchen geht hervor, daß sowohl bei normalen als auch bei kastrierten Kaninchen nach Schilddrüsenfütterung die Traubenzuckerzufuhr auch eine Steigerung des respiratorischen Quotienten hervorruft.

Mit Wahrscheinlichkeit könnte man vermuten, daß die Schilddrüsenfütterung bei normalen und bei kastrierten Kaninchen keine bedeutende Hemmung der Zuckerverbrennung verursacht, daß dabei

vielmehr eine Steigerung der Zuckerverbrennung zustande kommt. Vergleicht man das Resultat mit dem von *Cramer* und *Krause* sowie anderen, welche den Glykogenschwund der Leber nach Schilddrüsenfütterung bestätigten, so kann man die konträre Erscheinung gegen Schilddrüsenfütterung bei kastrierten Kaninchen dadurch erklären, daß bei den kastrierten die träge Funktion der Leber durch Schilddrüsensubstanz mäßig gereizt wird, während der Stoffwechsel des normalen Kaninchens durch Schilddrüsensubstanz abnorm gereizt und der dissimilatorisch erregte Zustand der Leber herbeigeführt wird.

## Schlußfolgerungen.

1. Es trat nach der Kastration sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Kaninchen eine Verminderung des respiratorischen Gaswechsels ein, welche erst nach mehreren Wochen deutlicher zum Vorschein kam und dann lange dauerte.

2. Durch einseitige Samenstrangunterbindung und Exstirpation des anderseitigen Hodens bei Kaninchen wurde nach mehreren Monaten eine deutliche Verminderung des respiratorischen Gaswechsels hervorgerufen wie nach der Kastration. Histologisches Bild der zurückgebliebenen Hoden zeigte eine hochgradige Verödung der spermatogenen Zellen und eine Wucherung des Zwischengewebes, dabei blieben Sertolizellen und auch vereinzelt Spermatogonien erhalten. Daraus kann man wahrscheinlich schließen, daß die Einflüsse des Hodens auf die Gas- und Kohlehydratstoffwechsel von den spermatogenen Zellen herstammen.

3. Der verminderte Gaswechsel der kastrierten Kaninchen wurde durch Transplantation der Keimdrüsen mehr oder weniger gehoben, wobei die Einwirkung der transplantierten Keimdrüsen sich als geschlechtsunspezifisch erwies. In bezug auf die Verfütterung von Keimdrüsensubstanz fielen meine Ergebnisse negativ aus.

4. In der Brunst zeigten die Kaninchen keinen gesteigerten Gaswechsel.

5. Schilddrüsenfütterung wirkt ebenso bei normalen wie bei kastrierten Kaninchen gaswechselsteigernd, wobei keine merkliche Störung der Zuckerverbrennung nachweisbar ist. Somit könnte man wahrscheinlich das in der vorigen Mitteilung angegebene konträre Verhalten der kastrierten Kaninchen, wonach die kastrierten Kaninchen im Gegensatz zu den normalen eine erhöhte Zuckertoleranz nach der Schilddrüsenfütterung aufwiesen, hauptsächlich dadurch erklären, daß die träge Zuckerassimilationstätigkeit bei den kastrierten Kaninchen durch Einwirkung von Schilddrüsensubstanz mäßig gereizt wird.

# Über die Beziehungen der im Urin ausgeschiedenen oberflächenaktiven Stoffe zur Harnsäure.

**(Zugleich ein Beitrag zur Atophanwirkung.)**

Von

**M. Goldwasser.**

(Aus der III. medizinischen Klinik der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 9. Oktober 1923.)*

Mit 9 Abbildungen im Text.

Wir haben in einer früheren Arbeit[1]) unter anderem gezeigt, wie wir die Mengen der oberflächenaktiven Stoffe in jeder Urinportion abzuschätzen und untereinander zu vergleichen imstande sind. Auf Grund der von uns ausgeführten Untersuchungen konnten wir zeigen, daß die Erhöhung bzw. Herabsetzung der stalagmometrisch bestimmten Zahl der Tropfen eines Harns bei Verdünnung oder Eindickung desselben mit ganz kleinen Fehlern als proportional der Verdünnung bzw. Eindickung angenommen werden darf. Um die Mengen der oberflächenaktiven Stoffe in verschiedenen Urinportionen vergleichen zu können, schlugen wir deshalb vor, eine einheitliche Urinportion von 100 ccm der Berechnung zugrunde zu legen. Die Berechnung gestaltet sich dabei ganz einfach. Nehmen wir an, daß wir von einer Urinportion von $Q$ ccm ausgehen mit einer Zahl der Tropfen $a$, bestimmt mit einem Stalagmometer, der $b$ Tropfen für Wasser hat. Der Urin zeigt also durch die in ihm vorhandenen oberflächenaktiven Stoffe eine Erhöhung der Zahl der Tropfen im Vergleich zu Wasser von $(a - b)$ Tropfen. Hätten wir denselben Urin bis 100 ccm eingeengt, d. h. seine Konzentration an oberflächenaktiven Stoffen $\frac{Q}{100}$ mal erhöht, dann bekämen wir eine Erhöhung der Zahl der Tropfen im Vergleich zum Wasser nicht $a - b$, sondern $(a - b) \cdot \frac{Q}{100} = E$.

Diese Größe, welche wir als Einheitsgröße mit $E$ bezeichnet haben, gibt uns ein Maß, das uns innerhalb geringer Fehlergrenzen die Mengen

[1]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 87.

der oberflächenaktiven Stoffe in verschiedenen Urinportionen miteinander zu vergleichen erlaubt.

Wir haben dann auf Veranlassung des Herrn Prof. *Guggenheimer* uns bemüht, nachzuprüfen, wie sich die Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe im Harn zur Ausscheidung anderer uns gut bekannter Stoffe verhält.

Schon auf Grund einiger klinischer Tatsachen war zu vermuten, daß zwischen der Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe und der Ausscheidung der Harnsäure bestimmte Beziehungen bestehen. Ist doch bekanntlich bei malignen Tumoren die Konzentration des Harns an oberflächenaktiven Stoffen auffallend hoch. *Schemensky* (1) will sogar diese Tatsache für die frühzeitige Diagnose eines Carcinoms verwerten. Außerdem finden wir bei Leukämie, Anaemia perniciosa, aktiver Tuberkulose, akuten Infektionskrankheiten, Pneumonie im Stadium der Resolution hohe Konzentration der oberflächenaktiven Stoffe im Urin. Dabei handelt es sich stets um Krankheitszustände mit ungewöhnlicher Zellenvermehrung oder erhöhtem Zellzerfall, wobei es in der Regel zu einer Erhöhung der Harnsäure im Urin kommt. Andererseits war uns auch die von *Joel* (2) festgestellte Tatsache bekannt, daß die Kurven der Menge der undialysablen Harnkolloide und der Menge der Harnsäure im Urin parallel verlaufen. Untersuchungen über das Verhalten der oberflächenaktiven Stoffe erübrigten sich nicht, da wir dieselben nicht mit den undialysablen Harnkolloiden identifizieren dürfen. Wir wissen heute noch nicht genau, welche physikalisch-chemischen Eigenschaften die oberflächenaktiven Stoffe des Harns haben. *Bechhold* und *Reiner* (3) vermuten, daß es Kolloide und Semikolloide in verschiedenem Dispersitätsgrad sind. Noch nicht veröffentlichte Versuche von *Joel,* deren Ergebnis mitzuteilen er so freundlich war, uns zu gestatten, ergaben, daß die oberflächenaktiven Stoffe des Harns leicht dialysabel sind[1]). Es scheint also, daß es in der Hauptsache Stoffe sind, die nach ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften an der Grenze der zwei Gebiete, der wahren und kolloidalen Lösungen, liegen, die früher so scharf voneinander getrennt wurden und jetzt immer mehr fließende Übergänge zeigen.

Wir haben deshalb in ausgedehnten Untersuchungen die Beziehungen zwischen der im Harn ausgeschiedenen Menge von oberflächenaktiven Stoffen und der Harnsäure zu klären versucht. Zu diesem Zwecke haben wir, um alimentäre Reize zunächst auszuschalten, unsere Versuchspersonen auf eine gleichmäßige purinfreie, kalorisch ausreichende Diät gestellt. Im sorgfältig gesammelten 24-Stunden-Urin bestimmten wir mittels der Methode von *Folin-Shaffer* die Harnsäure, mit einem Stalagmometer von *Traube* ($Zw = 20{,}8$) die Zahl der Tropfen. Aus der Menge des innerhalb von 24 Stunden ausgeschiedenen Urins und der gefundenen Zahl der Tropfen berechneten wir in oben beschriebener Weise die vergleichbare Einheitsgröße $E$. Die

[1]) Inzwischen unternommene, noch nicht abgeschlossene eigene Untersuchungen ergaben, daß die oberflächenaktiven Stoffe des Harns alkoholisch sind.

gefundenen Harnsäurewerte, die gefundene Zahl der Tropfen sowie die berechnete Größe $E$ stellten wir kurvenmäßig dar. Wir haben zahlreiche derartige Versuche an gesunden und kranken Personen durchgeführt, von denen wir wegen beschränkten Raumes nur einige Kurven wiedergeben können. Aus leicht ersichtlichen Gründen haben wir dabei Fälle von Ikterus und Albuminurie vermieden. Wie konnten uns, wie die Abb. 1 demonstrieren soll, stets überzeugen, daß die Kurve der ausgeschiedenen oberflächenaktiven Stoffe ($E$) im großen und ganzen parallel der Kurve der Harnsäuremenge ($\bar{U}$) verläuft, was, wie wir in der vorigen Arbeit bereits auseinandergesetzt haben, für die Kurve der Zahl der Tropfen ($Z$) nicht immer zutrifft. Diese Befunde im Zusammenhang mit den schon oben erwähnten klinischen Beobachtungen legen den Gedanken nahe, daß die oberflächenaktiven Stoffe im Harn ebenso wie die Harnsäure mit der Tätigkeit oder Abnutzung der Zellenkerne verknüpft sind.

Immerhin ist damit die Frage, ob die im Harn befindlichen oberflächenaktiven Stoffe präformiert aus dem Blute stammen, oder ob sie, teilweise während der Tätigkeit der Nierenzellen selbst entstehend, in das Lumen der Harnkanäle abgeschieden werden, wie es *Lichtwitz* (4) für die Harnkolloide annimmt, nicht entschieden. Der zwingende Beweis, daß sie aus dem Blutplasma stammen, wäre nur dann zu erbringen, wenn wir diese Stoffe im Blute und Urin zu isolieren und miteinander zu identifizieren imstande wären. Davon sind wir aber noch sehr weit entfernt. In sehr interessanten Untersuchungen, die auf den von *O. Löwi* (5) zuerst gefundenen wichtigen Beobachtungen über die humorale Übertragbarkeit der Herznervenreizungswirkung basieren, konnten *Hamburger* (6) und seine Schüler kürzlich zeigen, daß auf bestimmte Nervenreize hin ein überlebendes Organ wie das Herz oberflächenaktive Stoffe in die Durchströmungsflüssigkeit abgibt. Derartige bei bestimmten Nervenreizen in den Kreislauf übergehende oberflächenaktive Stoffe könnten im lebenden Organismus durch die Nieren ausgeschieden werden.

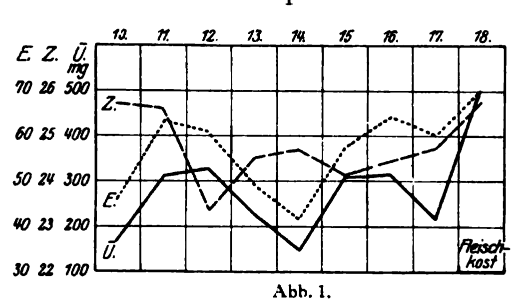


Abb. 1.

Man könnte auch versucht sein, den Parallelismus zwischen der Harnsäureausscheidung und der Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe so zu erklären, daß bei der Fähigkeit der Nierenzellen, Harnsäure zu eliminieren, die oberflächenaktiven Stoffe gebildet und gleichzeitig

ausgeschieden werden. Wäre die Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe im Harn mit der Ausscheidung der Harnsäure durch die Nierenzellen enger verknüpft, dann müßten wir bei jeder vermehrten Harnsäureausscheidung auch entsprechend vermehrte Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe beobachten. Wir legten uns darum die Frage vor, ob auch mit einer durch Pharmaka, wie Atophan, hervorgerufenen Mehrausscheidung der Harnsäure die Mengen der oberflächenaktiven Stoffe im Urin anwachsen. Für die undialysablen kolloidalen Bestandteile des Harns hatte bereits *Joel* (7) ein Abweichen von dem sonst von ihm festgestellten Parallelismus mit der $\bar{U}$-Kurve gezeigt. Es ergab sich nämlich, daß nach Atophan die Menge der undialysablen Harnkolloide im Gegensatz zu dem beträchtlichen Ansteigen der $\bar{U}$-Kurve nicht zunahm.

Wir haben eine Reihe von Versuchspersonen auf eine purinfreie Diät gestellt, jede Verabreichung von Arzneien wurde für die Versuchszeit unterlassen.

Die in oben beschriebener Weise in der 24stündigen Urinportion bestimmten Mengen von oberflächenaktiven Stoffen und Harnsäure wurden kurvenmäßig dargestellt. Nach einigen Tagen wurde den Versuchspersonen bei gleichbleibender Kost Atophan in Mengen von 3 g täglich 3 bis 4 Tage lang verabreicht und dann eine Nachperiode ohne Atophan angeschlossen. Wie die folgenden Abbildungen in deutlicher Weise zeigen, ruft Atophan bei allen Versuchspersonen den bekannten Anstieg der Harnsäurewerte hervor, wenn auch individuell verschieden stark und verschieden lange andauernd, während die sonst parallel der Harnsäureausscheidung verlaufende Kurve der ausgeschiedenen oberflächenaktiven Stoffe vom Moment der Verabreichung des Atophans an deutlich herabsinkt, um nach Abklingen der Atophanwirkung wieder das frühere Niveau zu erreichen und weiter parallel der Harnsäurekurve zu verlaufen.

Die Abb. 2 stammt von einer gesunden Pflegerin der Klinik. Während der fünftägigen Vorperiode verlaufen die Kurven $\bar{U}$ und $E$ parallel. Am ersten Tage der Atophanperiode sehen wir einen steilen Anstieg der Harnsäurekurve und einen ebenso steilen Sturz der Kurve $E$. Trotz weiterer Verabreichung von Atophan sinkt schon am nächsten Tage die $\bar{U}$-Kurve, auch die $E$-Kurve bewegt sich wieder nach oben, um weiterhin mehr parallel der $\bar{U}$-Kurve zu verlaufen. Die letzten 4 Tage des Versuches zeigen ein ganz anderes Verhalten der beiden Kurven bei Fleischzulage, worauf weiter unten eingegangen werden soll.

Abb. 3 stammt von einer gesunden Person $H$. Die Vorperiode dehnten wir in diesem Falle auf 10 Tage aus wegen der zunächst starken Schwankungen der Harnsäurewerte. Am siebenten Tage der Vorperiode fällt eine gewisse Divergenz der Kurven auf. Solche Divergenzen in diesem oder im umgekehrten Sinne haben wir in unseren zahlreichen Versuchen von Zeit zu Zeit beobachtet. Es dürften derartige Abweichungen von dem im allgemeinen parallelen Verlauf nicht auf methodischen Fehlern beruhen. Wir sehen vielmehr darin eine Wirkung vorläufig noch unkontrollierbarer Reize. In diesem Falle haben wir am ersten Tage der Atophanperiode

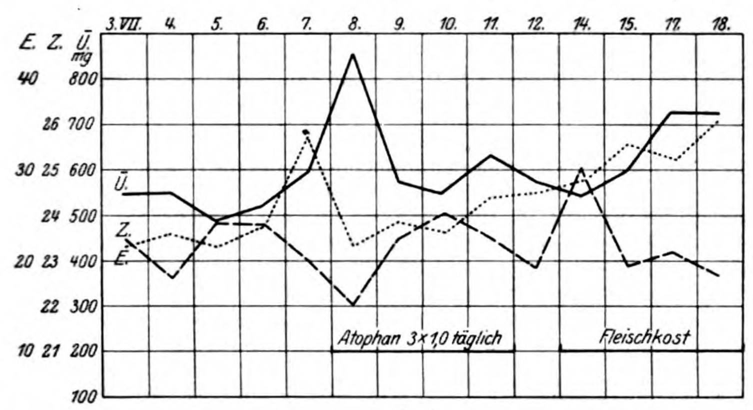



Abb. 2.

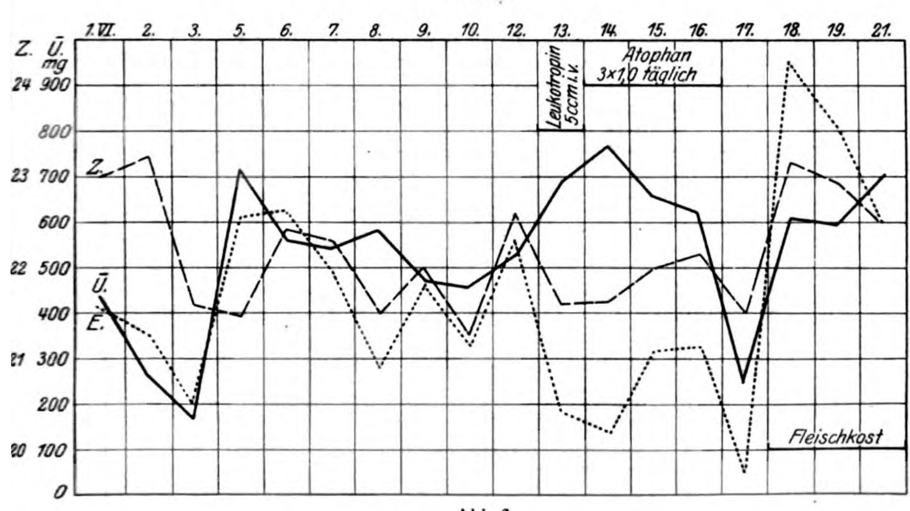



Abb. 3.

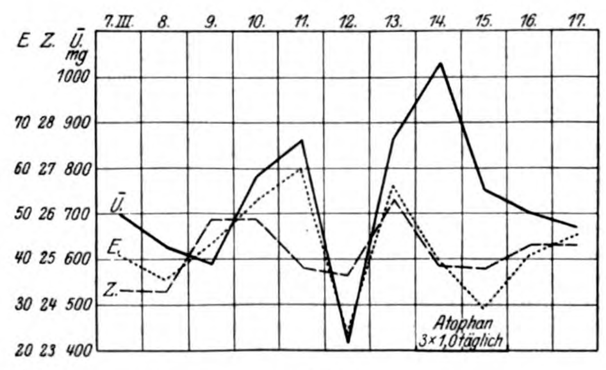



Abb. 4.

anstatt Atophan per os eine intravenöse Injektion von 5 ccm des von *Br. Mendel* benutzten Leukotropins verabreicht. Wir sehen wieder in deutlicher Weise den Anstieg der $\bar{U}$-Kurve und den besonders steilen Sturz der $E$-Kurve. Vom nächsten Tage an wurde noch 3 Tage lang Atophan per os verabreicht. Die Kurve $\bar{U}$ steigt zunächst weiter an, die Kurve $E$ sinkt noch tiefer. Trotz weiterer Atophanverabreichung fängt die $\bar{U}$-Kurve bald zu sinken an; ebenso erschöpft sich die Atophanwirkung auf die $E$-Kurve. Nach einem atophanfreien Tage erprobten wir wieder den Einfluß täglicher Fleischzulagen und sahen entsprechend dem Verlaufe der Harnsäurekurve einen mächtigen Anstieg der $E$-Kurve.

In einem Falle (Abb. 4) versuchten wir auch, die Atophanwirkung auf die Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe bei gemischter Kost

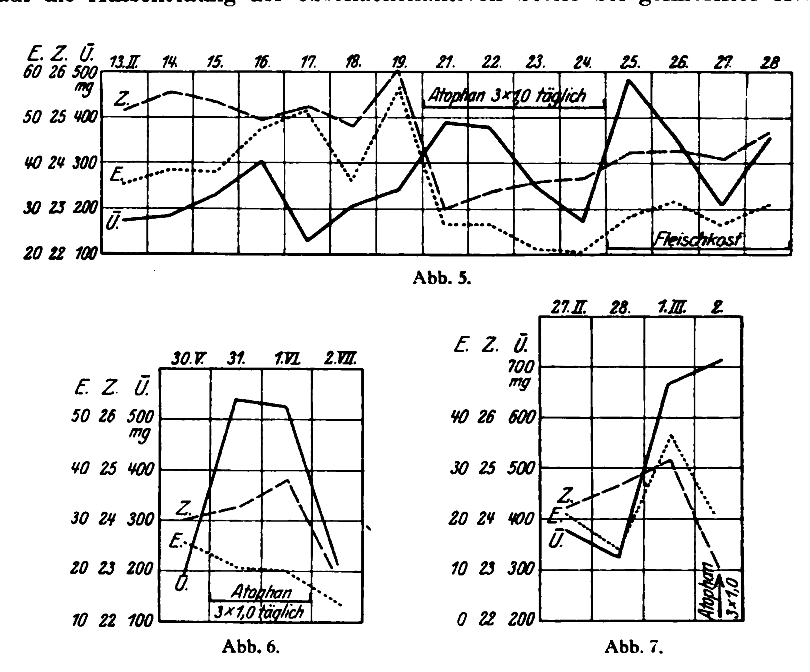



Abb. 5.

Abb. 6.

Abb. 7.

zu beobachten. Hier ging dem ersten Tage der Atophandarreichung ein Tag mit hohem Harnsäurewert voraus, wobei die $E$-Kurve den Anstieg mitmachte. Sobald Atophan verabreicht wurde, schlug der Verlauf der $E$-Kurve sofort nach unten um, während die $\bar{U}$-Kurve ihren Anstieg fortsetzte.

Die Abb. 5 stammt von einem Patienten mit schwerer familiärer Gicht. Nebenbei bemerkt zeigte sich in diesem Falle während der Vorperiode am fünften Tage eine deutliche Divergenz der beiden Kurven im umgekehrten Sinne wie in Abb. 4 am siebenten Tage, wofür, wie gesagt, unkontrollierbare Reize in Frage kommen dürften. Die Wirkung des Atophans in diesem Falle auf die $E$-Kurve ist besonders stark. Während die Wirkung des Atophans auf die Harnsäureausscheidung nur 2 Tage anhält, sinkt die $E$-Kurve fortdauernd während der ganzen Zeit der Atophan-

periode, um bei anschließender purinreicher Kost nur zögernd dem Anstiege der $\bar{U}$-Kurve zu folgen.

Die Abb. 6 und 7 stellen kurze Versuche dar.

Abb. 6 stammt von einer Frau mit Nephrolithiasis. Die Vor- und Nachperiode dauerte nur einen Tag. Trotzdem sehen wir auch in diesem Falle in prägnanter Weise die typische Divergenz der Kurven $\bar{U}$ und $E$ nach Atophan.

Im Falle *G.* (Abb. 7) mußten wir den Versuch bereits nach dem ersten Atophantage abbrechen, weil der Patient (Hypertonie) die Klinik verlassen mußte. Analog wie in Fall *A* (Abb. 4) war gerade am Tage vor der Atophanperiode hier, vermutlich infolge eines Diätfehlers, ein Anstieg der Harnsäurekurve zu sehen. Die Kurve *E* verläuft dabei wie üblich parallel.

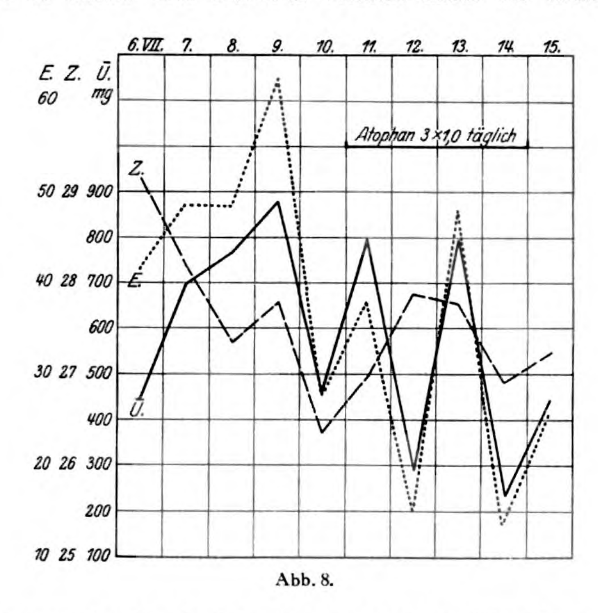


Abb. 8.

An dem ersten der Verabreichung von Atophan folgenden Tage steigt zwar die $\bar{U}$-Kurve nur unbedeutend an; die Atophanwirkung ist aber unverkennbar an dem typischen Sinken der *E*-Kurve.

Die folgende Abb. 8, die von einem Patienten mit großem Lungentumor und Metastasen in der Leber (ohne Ikterus) stammt, ist in mancher Beziehung interessant. Hier sind die Schwankungen und absoluten Werte der endogenen Harnsäure schon vor Atophandarreichung sehr erheblich; nach Atophan werden sie nicht ausgesprochener. Wir dürfen wohl annehmen, daß bei diesen Patienten das Blut mit Produkten des Kernzerfalls stark angereichert ist und die Nieren auch ohne Atophan ihr möglichstes leisten, um diese Produkte zu entfernen, so daß die Wirkung des Atophans nicht so deutlich zum Vorschein kommt. Die Wirkung des Atophans äußert sich in Analogie mit unseren bisherigen Ergebnissen nur darin, daß die Kurve der ausgeschiedenen oberflächenaktiven Stoffe in den ersten beiden Tagen der Atophanperiode unterhalb der Harnsäurekurve verläuft, während sie in der Vorperiode dauernd oberhalb der Harnsäurekurve liegt.

Jeder, der weiß, mit wieviel Mühe und Zeitaufwand Versuche, wie die oben ausgeführten, verbunden sind, wird unser Bestreben begreiflich finden, die Atophanwirkung auch in einem 6-Stunden-Versuch zu zeigen. Wir haben zu diesem Zwecke einige Versuche unter anderem in folgender Weise angestellt:

Die Versuchsperson bleibt nüchtern von 9 Uhr abends bis 1 Uhr mittags des Versuchstages. Am Versuchstage wird die Blase um 7 Uhr früh entleert. Dann wird der Urin alle 2 Stunden, also um 9, 11 und 1 Uhr gesammelt. Nach der ersten gesammelten Urinportion wurde um 9 Uhr eine 0,5 g enthaltende Ampulle Atophan-*Schering* intravenös gegeben. In allen drei Urinportionen wurden in oben beschriebener Weise die $\overline{U}$-Mengen und die Größe $E$ festgestellt und dann kurvenmäßig eingetragen.

Wie die Abb. 9 zeigt, konnten wir auch hier die typische Divergenz der Kurven $\overline{U}$ und $E$ nach Atophan feststellen.

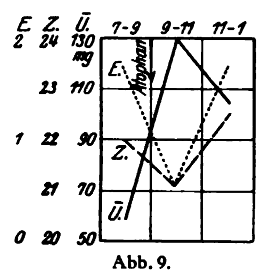


Abb. 9.

Wir möchten diese Versuche aber nur bedingt verwerten, da in größeren Versuchsreihen noch festzustellen ist, wie sich bei dieser Versuchsanordnung die Tagesschwankungen der beiden Kurven zu verhalten pflegen.

In einigen von unseren Versuchen haben wir zum Schluß den Übergang von purinfreier Kost zu Fleischkost beobachtet.

Wie die letzten Abschnitte der Abb. 1, 2, 3 und 5 zeigen, *steigen dann im Gegensatz zum Atophan mit Einsetzen des Fleischgenusses konform den Harnsäurewerten auch die Mengen der oberflächenaktiven Stoffe rasch an.* Nur im Falle $B$ (Abb. 5) folgt die Kurve $E$ nur zögernd der $\overline{U}$-Kurve. Die Ursache dafür könnte vielleicht darin liegen, daß es sich in diesem Falle um einen schweren Gichtiker handelt und hier der depressorische Einfluß des Atophans auf die Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe zunächst noch weiter anhält, zudem hier die Fleischperiode unmittelbar der Atophanperiode angeschlossen wurde.

Wir haben durch unsere Versuche folgende Tatsachen festgestellt:

*1. Die Harnsäureausscheidung und die Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe verläuft im allgemeinen parallel.*

*2. Nach Atophan zeigt sich, im Gegensatz zu seiner bekannten Wirkung auf die Harnsäureausscheidung, eine beträchtliche Verminderung der oberflächenaktiven Stoffe im Urin. Damit ergibt sich zugleich ein weiterer Punkt, in dem die oberflächenaktiven Stoffe und die undialysablen kolloiden Stoffe des Harns differieren.*

*3. Purinreiche Ernährung ruft dagegen nicht nur eine Vermehrung der Harnsäure im Urin, sondern auch eine Vermehrung der oberflächenaktiven Stoffe hervor.*

Die Schlüsse, die sich aus den vorliegenden Untersuchungen ziehen lassen, sind folgende:

Die Herkunft der oberflächenaktiven Stoffe im Harn ist nicht an die Tätigkeit der Nierenzellen bei der Ausscheidung der Harnsäure gebunden. Mit einer solchen Annahme wäre das Verhalten nach Atophangaben nicht vereinbar. Vielmehr sind wir geneigt, im Zusammenhang mit den oben erwähnten klinischen Beobachtungen und den letzten Versuchen von *Hamburger* und seinen Schülern es als wahrscheinlich zu betrachten, daß die oberflächenaktiven Stoffe des Harns aus dem Blute stammen.

Es fragt sich nur, wie wir den sonstigen Parallelismus zwischen der Ausscheidung der Harnsäure und der oberflächenaktiven Stoffe zu deuten haben. Am nächsten liegt, wie bereits angedeutet, der Gedanke, daß die Entstehung der oberflächenaktiven Stoffe im Blute mit dem Purinstoffwechsel bzw. mit der Tätigkeit der Zellkerne irgendwie verknüpft ist. Wir haben aber nicht die Absicht, uns auf Grund der bisher gefundenen Tatsachen darauf festzulegen. Es wäre ebenso möglich, daß die Entstehung der oberflächenaktiven Stoffe und der Purinstoffwechsel zwei zwar parallel verlaufende, aber doch vollkommen getrennte Prozesse in der Zelle sind, die gemeinsam durch bestimmte Reize einmal in demselben Sinne, das andere Mal in umgekehrtem Sinne beeinflußt werden. Gewinnt aber durch weitere Untersuchungen die Hypothese an Boden, daß wirklich ein engerer Zusammenhang zwischen dem Purinstoffwechsel und den oberflächenaktiven Stoffen besteht, dann dürften unsere Versuche auch für wichtige, noch offenstehende Fragen des Purinstoffwechsels herangezogen werden. So könnte die vermehrte Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe bei Verabreichung purinreicher Kost dafür sprechen, daß die vermehrte Harnsäure nach purinreicher Kost nicht exogener, sondern endogener Herkunft ist, also ein Beweis mehr für die Anschauung von *Marès* (8) und seiner Schule, die neuerdings starke Unterstützung in den Arbeiten von *Abel* (9), *Brugsch* (10) und *Joel* (11) gefunden hat.

Die oben beschriebene Wirkung des Atophans ließe sich am besten mit der Annahme *Starkensteins* (12) vereinen, wonach Atophan außer einer vermehrten Ausscheidung der Harnsäure durch die Nieren noch eine Herabsetzung des Purinstoffwechsels hervorruft. Mit den Anschauungen von *Nicolaier* und *Dohrn* (13) und von *Weintraud* (14), die die Wirkung des Atophans lediglich als eine Nierenbeeinflussung betrachten, wie auch mit der Meinung von *Frank* und *Przedborski* (15), die außer einer Nierenwirkung noch eine besondere Lenkung des Stoffwechsels in der Richtung der Harnsäurebildung annehmen, kämen wir nicht aus. Auch *Br. Mendels* (16) Auffassung, der die Atophanwirkung mit Leukocytenuntergang in Zusammenhang bringt, wäre mit unseren Beobachtungen nicht in Einklang zu bringen.

Es erscheint uns aber geboten, einstweilen keine kurzfristigen Theorien aufzustellen und lieber die Resultate weiterer Untersuchungen in dieser Richtung abzuwarten. Es sind von uns auch schon Versuche angestellt, um andere Stoffe in ihrer Wirkung auf die Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe zu prüfen. Wir hoffen, in Kürze einiges darüber mitteilen zu können. Einstweilen beschränken wir uns auf die Feststellung, daß Atophan nach allem, was wir bisher beobachten konnten, wie ein *Reiz* in gesetzmäßiger Weise die Ausscheidung der oberflächenaktiven Stoffe herabsetzt, bei verschiedenen Personen verschieden stark und mehr oder weniger schnell sich erschöpfend. Wir halten es deshalb zum Studium des Verhaltens der im Urin ausgeschiedenen oberflächenaktiven Stoffe für notwendig, von den Versuchspersonen diätetische, pharmakologische und

auch psychische Reize möglichst fernzuhalten, um eindeutige Ausschläge zu erhalten, was natürlich bei längeren Versuchsperioden nicht leicht durchzuführen ist.

## Literatur.

1) Mitteil. aus d. Grenz. d. Med. u. Chir. **34**, 1921. — 2) Zeitschr. f. Urol. **16**, 1922. — 3) Diese Zeitschr. **108**. — 4) *Lichtwitz*, „Klin. Chem." — 5) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **189**. — 6) Klin. Wochenschr. 1923, Nr. 28. — 7) l. c. — 8) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **134**, 1910. — 9) Verhandlungen d. Kongr. f. inn. Med. **30**, 1913. — 10) Verhandl. d. Berl. med. Ges. 1922. — 11) Zeitschr. f. klin. Med. **95**, 1922. — 12) Diese Zeitschr. **106**. — 13) Deutsch. Arch. f. inn. Med. **68**. — 14) Therap. d. Gegenwart **51**. — 15) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **68**, 1912. — 16) Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 25.

# Über die Wirkung des Schüttelns auf die Senkung der roten Blutkörperchen.

Von

**L. Berczeller und H. Wastl.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Wien.)

*(Eingegangen am 11. Oktober 1923.)*

Obgleich der große Unterschied zwischen der Senkung der roten Blutkörperchen im Plasma und Serum schon längst bekannt ist und in neuerer Zeit in vielen Untersuchungen wieder nachgewiesen wurde (*Fahreus*, *Linzenmeyer*, *Starlinger*, *Krüger* usw.), mangelt es noch immer an der genaueren Kenntnis des Unterschiedes zwischen den auf verschiedene Weise gewonnenen Plasmen und Seren. Insbesondere wissen wir nicht, ob ein kurzes Schütteln des Serums bzw. Plasmas eine Veränderung der Senkung hervorrufen kann. Versuche, in welchen Blutproben einer Schüttelung unterworfen waren, wie es beim Defibrinieren stattfindet, wurden nach unserem Wissen bis jetzt nicht ausgeführt, obschon diese Versuche für die Erkenntnis des Mechanismus der Senkung von Bedeutung sind. Wir haben aus diesem Grunde die Wirkung der Gase zuerst behandelt, weil nur in dieser Weise die Wirkung des Schüttelns getrennt von der Gaswirkung untersucht werden kann. Zunächst sollen nur die beim Schütteln mit $O_2$ erhaltenen Werte behandelt werden, da vom Standpunkt der Untersuchung des Defibrinierens die anderen Befunde (Schütteln des Blutes unter $CO_2$, $H_2$. CO usw.) belanglos sind.

*Tabelle I.*

Weibliches normales Menschenblut. (Oxalatplasma.)

| Zeit in Min. | Wirkung des Schüttelns (Freie Plasmahöhen in mm) | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 90° | | | 67½° | | | 45° | | | 22½° | | |
| | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ |
| 20 | 0 | 0,25 | 0 | 1,50 | 1,75 | 1,75 | 4,00 | 7,00 | 4,50 | 5,00 | 7,50 | 5,00 |
| 40 | 0,25 | 0,75 | 0,75 | 7,00 | 7,50 | 7,00 | 14,00 | 19,50 | 15,00 | 20,00 | 28,00 | 19,50 |
| 50 | 0,50 | 1,00 | 1,25 | 10,00 | 11,00 | 10,50 | 18,00 | 25,00 | 18,50 | 26,00 | 35,00 | 25,00 |
| 80 | 0,75 | 1,50 | 1,50 | 18,00 | 22,00 | 16,00 | 30,00 | 39,50 | 29,00 | 39,00 | 47,00 | 38,00 |
| 150 | 1,50 | 2,50 | 2,50 | 32,00 | 37,00 | 29,00 | 43,00 | 49,50 | 42,00 | 51,00 | 58,00 | 51,00 |
| 210 | 2,50 | 5,00 | 4,50 | 37,00 | 44,00 | 36,50 | 46,00 | 53,00 | 45,50 | 55,00 | 60,50 | 55,50 |
| 370 | 3,50 | 8,00 | — | 39,00 | 51,00 | 40,00 | 50,00 | 58,00 | 49,00 | 60,00 | 66,00 | 61,00 |
| 1620 | 21,00 | 37,00 | 18,00 | 60,00 | 61,00 | 59,00 | 63,00 | 66,00 | 64,00 | 71,00 | 73,00 | 69,00 |

n = Nicht geschüttelt; g = Geschüttelt; $O_2$ = $O_2$-gesättigt.

In Tabelle I ist ein weibliches menschliches Blut angegeben, welches in 130 mm hoher Blutsäule, in 2 mm weiten Röhrchen in der üblichen Weise untersucht wurde[1]). (Das Blut wurde in Kölbchen bzw. Eprouvetten mit der Hand etwa 3 bis 5 Minuten geschüttelt.)

Bei 90⁰ untersucht, ergibt sich nur in den Werten nach längerer Senkungsdauer eine Zunahme der Senkung infolge Schüttelns, auch bei $67^1/_2{}^0$ ist die Wirkung nur eine geringe, dagegen zeigt sich bei 45 und $22^1/_2{}^0$ eine sehr gut nachweisbare Zunahme der Senkungshöhen infolge Schüttelns.

Dieser Fall ist um so mehr beweisend für die Schüttelwirkung, weil in den schiefen Röhren, wo eine ausgesprochene Zunahme der Senkung infolge des Schüttelns beobachtet wird, keine Zunahme der Senkungshöhen infolge der Sauerstoffsättigung zu beobachten ist[2]).

*Tabelle II.*

Weibliches Pferdeblut. (Freie Plasmahöhen in Millimetern.)

| Zeit in Min. | 90° | | | $67^1/_2{}^0$ | | | 45° | | | $22^1/_2{}^0$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | g | v. 16h g | n | g | v. 16h g | n | g | v. 16h g | n | g | v. 16h g |
| | | | | | | Citratplasma. | | | | | | |
| 15 | 1,00 | 5,00 | 1,00 | 10,00 | 30,00 | 20,00 | 14,00 | 35,00 | 25,00 | 17,00 | 51,00 | 35,00 |
| 30 | 2,75 | 10,00 | 2,00 | 25,00 | 54,00 | 40,00 | 37,00 | 50,00 | 45,00 | 42,00 | 58,00 | 50,00 |
| 45 | 3,50 | 18,00 | 7,00 | 36,00 | 57,00 | 51,00 | 47,00 | 56,00 | 54,00 | 50,00 | 64,00 | 57,00 |
| 80 | 13,00 | 33,00 | 34,00 | 50,00 | 63,00 | 61,00 | 57,00 | 62,00 | 61,50 | 69,00 | 68,00 | 63,00 |
| | | | | | | Oxalatplasma. | | | | | | |
| 15 | 1,00 | 5,00 | 1,50 | 9,00 | 29,00 | 10,00 | 13,00 | 31,00 | 14,00 | 24,00 | 41,00 | 22,00 |
| 30 | 3,00 | 10,00 | 3,00 | 24,00 | 44,00 | 25,00 | 28,00 | 42,00 | 31,00 | 41,00 | 51,00 | 43,00 |
| 45 | 6,00 | 16,00 | 13,00 | 34,00 | 51,00 | 34,00 | 37,00 | 49,00 | 40,00 | 47,00 | 55,00 | 51,00 |
| 80 | 33,00 | 32,00 | 33,00 | 44,00 | 60,00 | 44,00 | 48,00 | 56,00 | 51,00 | 55,00 | 61,00 | 58,00 |
| | | | | | | Defibriniert. | | | | | | |
| 15 | 1,25 | 5,00 | 2,00 | 13,00 | 38,00 | 16,00 | 16,50 | 41,00 | 26,00 | 25,00 | 37,00 | 26,00 |
| 30 | 3,75 | 16,00 | 9,00 | 26,00 | 53,00 | 36,00 | 34,00 | 53,00 | 50,00 | 44,00 | 50,00 | 46,00 |
| 45 | 20,00 | 30,00 | 22,00 | 39,00 | 58,00 | 45,00 | 48,00 | 56,00 | 56,00 | 49,00 | 55,00 | 49,00 |
| 80 | 50,00 | 48,00 | 43,00 | — | 63,00 | 54,00 | 59,00 | 61,00 | 62,00 | 58,00 | 60,00 | 60,00 |

n = Nicht geschüttelt; g = Geschüttelt; v. 16h g = vor 16h Geschüttelt.

[1]) Ebenso in den Versuchen, die in den übrigen Tabellen angegeben sind.

[2]) Wir sehen also, daß je nach der Empfindlichkeit der Methode die Wirkung des Schüttelns eine nachweisbare oder nicht beobachtbare wird. Es mußten aber, um die Schüttelwirkung näher untersuchen zu können, wieder solche Bedingungen gewählt werden, wo die Wirkung eine maximale ist. Diesen Fall haben wir bei *Pferdeblut* gefunden. Nur dieser Weg – die *Untersuchung bei maximalen Wirkungen* — kann zur Klärung des Senkungsmechanismus führen, denn der Einzelwert der Senkungsbeobachtung ist aus einem so komplizierten Mosaik von Einzelbedingungen zusammengesetzt, daß man nur sehr schwer den meist wirksamen Faktor von den Nebenbedingungen trennen kann.

Besonders auffallend läßt sich die Beschleunigung durch Schütteln beim Pferdeblut nachweisen. Wir konnten große Unterschiede zwischen Citratplasma und Oxalatplasma in ungeschütteltem Blute nachweisen [s. vorhergehende Arbeit in dieser Zeitschrift[1])], indem im Citratplasma im $O_2$-gesättigten Zustande die Senkungshöhen größere waren, während im Oxalatplasma sogar eine Verlangsamung eintrat.

In Tabelle II ist ein Pferdeblut (von einem anderen Tiere, als es in der vorangehenden Mitteilung angegeben ist) als Versuchsbeispiel angeführt. Sowohl im Citrat- wie im Oxalatplasma ist die große Beschleunigung der Senkung durch Schütteln nachweisbar, aber auch im defibrinierten Blute kann man die Schüttelwirkung beobachten.

Besonderes Interesse beansprucht dieser Versuch aber deswegen, weil wir absichtlich einen Versuch gewählt haben, wo die Senkung im Plasma und Serum mit unwesentlich verschiedenen Geschwindigkeiten abläuft, ja die Senkung im Serum ist sogar gegenüber den Plasmen beschleunigt, was genau dem Entgegengesetzten des regelmäßig beobachteten Verhaltens entspricht. Dies haben wir nun einfach in der Weise erreicht, daß wir die Blutproben nicht bald nach der Entnahme, sondern erst 2 Tage später untersucht haben[2]).

Mit diesem Versuche ist also bewiesen, daß sich das Plasma vom Serum in der Senkungsbeeinflussung nicht nur darin unterscheidet, daß sich die roten Blutkörperchen infolge des Fibrinogengehaltes des Plasmas schneller senken, sondern daß dagegen noch ein anderer Faktor wirkt, indem durch das Schütteln beim Defibrinieren der Ausfall der Fibrinogenwirkung vermindert wird. Andererseits läßt sich aber auch zeigen, daß unter geeigneten Versuchsbedingungen, wenn wir nichts anderes als nur den Zeitfaktor variieren, im Serum die Senkung sogar etwas schneller stattfindet.

Weiter ergibt sich, daß dann, wenn die Senkung in den Plasmen bzw. Serum nicht wesentlich verschieden ist, auch die Wirkung des Schüttelns nicht wesentlich verschieden ausfällt (obschon immer gewisse regelmäßige Unterschiede zwischen Plasma und Serum nachweisbar sind, indem in den schiefer gestellten Röhren eine größere Beschleunigung der Senkung im Plasma als im Serum zu beobachten ist).

[1]) Über die Wirkung der Blutgase auf die Senkung der roten Blutkörperchen diese Zeitschr. 1923.

[2]) Die Veränderung der Plasmen und Seren beim Stehen ist ganz regelmäßig bei den verschiedensten Blutarten nachweisbar, doch sind auch hier sehr mannigfaltige Erscheinungen zu beobachten. Deswegen soll auf diese Erscheinung erst in der nächsten Mitteilung näher eingegangen werden. Vom praktisch diagnostischen Standpunkt aus ist diese Veränderung der Senkungsgeschwindigkeit von größter Bedeutung, aber eine genaue Untersuchung derselben ist erst auf Grund der Kenntnis anderer dabei wirksamer Faktoren (Gasgehalt, Schüttelwirkung) möglich.

Möglicherweise werden also nicht *nur* die gemeinsamen Bestandteile des Serums und Plasmas durch das Schütteln beeinflußt, sondern auch das Fibrinogen.

Aus Tabelle II ist auch ersichtlich, daß das geschüttelte und wieder stehengelassene Blut die Schüttelbeschleunigung mit der Zeit wesentlich einbüßt, ebenso wie die Senkungsgeschwindigkeit im Plasma mit der Zeit abnimmt, aber noch nach 16 Stunden ist immer noch ein Teil der Schüttelwirkung erhalten geblieben.

*Tabelle III.*

Weibliches Pferdeblut (24 Stunden gestanden). Freie Plasmahöhen in Millimetern.

| Zeit in Min. | $90^0$ | | | $67^1/_2{}^0$ | | | $45^0$ | | | $22^1/_2{}^0$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ |
| | Citratplasma. | | | | | | | | | | | |
| 15 | 3,50 | 15,00 | 3,50 | 22,00 | 52,00 | 27,00 | 32,00 | 52,00 | 43,00 | 47,00 | 52,00 | 49,00 |
| 30 | 11,00 | 37,00 | 7,50 | 48,00 | 62,00 | 37,00 | 59,00 | 61,00 | 56,00 | 62,00 | 62,00 | 58,00 |
| 45 | 32,00 | 51,00 | 19,00 | 57,00 | 66,00 | 51,00 | 65,00 | 64,00 | 61,00 | 67,00 | 65,00 | 62,00 |
| 85 | 58,00 | 65,00 | 52,00 | 65,00 | 71,00 | 67,00 | 69,00 | 68,00 | 66,00 | 70,00 | 69,00 | 68,00 |
| 1340 | 76,00 | 75,00 | 73,00 | 76,00 | 78,00 | 75,00 | 75,00 | 74,00 | 73,00 | 78,00 | 76,00 | 73,00 |
| | Oxalatplasma. | | | | | | | | | | | |
| 15 | 1,50 | 16,00 | 2,00 | 14,00 | 25,00 | 15,00 | 19,00 | 36,00 | 27,00 | 23,00 | 45,00 | 48,00 |
| 30 | 5,00 | 35,00 | 3,25 | 33,00 | 44,00 | 28,00 | 38,00 | 51,00 | 44,00 | 45,00 | 56,00 | 45,00 |
| 45 | 23,00 | 46,00 | 19,00 | 42,00 | 51,00 | 35,00 | 50,00 | 55,00 | 50,00 | 53,00 | 60,00 | 51,00 |
| 85 | 49,00 | 56,00 | 49,00 | 53,00 | 57,00 | 46,00 | 59,00 | 60,00 | 58,00 | 61,00 | 63,00 | 59,00 |
| 1340 | 68,00 | 68,00 | 65,00 | 72,00 | 69,00 | 65,00 | 71,00 | 69,00 | 68,00 | 72,00 | 71,00 | 69,00 |

n = Nicht geschüttelt; venös g = Geschüttelt; $O_2$ = $O_2$-gesättigt.

In Tabelle III ist ebenfalls eine mit Pferdeblut ausgeführte Versuchsreihe angegeben, wobei auch ein Versuch mit $O_2$-Sättigung angeführt ist. Dieser Versuch hat eine um so größere Beweiskraft, da die $O_2$-Wirkung, abgesehen vom Versuchsbeginn, nicht nur keine Beschleunigung, sondern zum Teil auch eine merkliche Verzögerung der Senkung sogar im Citratblut verursacht. Durch Schütteln wird die Senkung der Blutkörperchen besonders in den vertikalen Röhren sehr stark beschleunigt, je schiefer die Röhrchen gestellt sind, um so relativ geringer wird die Beschleunigung. Beim Citratblut schlägt diese Wirkung bei $22^1/_2{}^0$ sogar in eine schwache Verlangsamung um. Auch in diesem Falle ist zwischen Citrat- und Oxalatblut ein Unterschied in der Senkungsgeschwindigkeit nachweisbar, indem wieder das Citratblut die größeren Senkungshöhen nach gleichen Zeiten aufweist.

In den beiden voranstehenden Versuchsbeispielen haben wir ein verhältnismäßig langsam sinkendes Pferdeblut angeführt, deswegen soll noch ein Beispiel von einem schneller sinkenden in Tabelle IV gebracht werden. Die Untersuchung wurde 6 Stunden nach der Entnahme vorgenommen. Wir sehen wieder, daß das Citratblut schneller als das Oxalatblut sinkt. Dieser Versuch weist beim defibrinierten

*Tabelle IV.*

Weibliches Pferdeblut (6 Stunden nach Entnahme). Freie Plasmahöhen in Millimetern.

| Zeit in Min. | 90° | | | 67½° | | | 45° | | | 22½° | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Venös | Geschüttelt | $O_2$ | Venös | Geschüttelt | $O_2$ | Venös | Geschüttelt | $O_2$ | Venös | Geschüttelt | $O_2$ |
| | | | | | Citratplasma. | | | | | | | |
| 5 | — | 11,50 | — | — | 22,0 | — | — | 36,0 | — | — | 33,0 | — |
| 10 | 4,0 | — | 8,0 | 24,0 | — | 30,0 | 30,0 | — | 43,0 | 39,0 | — | 44,0 |
| 15 | — | 34,0 | — | — | 44,0 | — | — | 53,0 | — | — | 52,0 | — |
| 20 | 9,0 | — | — | 34,0 | — | — | 59,0 | — | — | 55,0 | — | 55,0 |
| 25 | — | 45,0 | — | — | 52,0 | — | — | 58,0 | — | — | 58,0 | — |
| 30 | — | 53,0 | 26,0 | — | 54,0 | 45,0 | — | 61,0 | 55,0 | — | 69,0 | 56,0 |
| 40 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 50 | 39,0 | — | 43,0 | 55,0 | — | 55,0 | 66,5 | — | 63,0 | 62,0 | — | 63,0 |
| 80 | — | — | 50,0 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 900 | 69,0 | 73,0 | 68,0 | 68,0 | 67,0 | 67,0 | 70,0 | 70,0 | 70,0 | 68,0 | 70,0 | 72,0 |
| | | | | | Oxalatplasma. | | | | | | | |
| 5 | — | 13,0 | — | — | 41,0 | — | — | 41 | — | — | 56 | — |
| 10 | 2,5 | — | 4,5 | 16,0 | — | 25,0 | 22,0 | — | 25,0 | 30,0 | — | 28,0 |
| 15 | — | 31,0 | — | — | 60,0 | — | — | 62,0 | — | — | 69,0 | — |
| 20 | 6,5 | — | — | 29,0 | — | — | 39,0 | — | — | 41,0 | — | — |
| 25 | — | 47,0 | — | — | 66,0 | — | — | 67,0 | — | — | 72,0 | — |
| 30 | — | — | 15,0 | — | — | 42,0 | — | — | 45,0 | — | — | 49,0 |
| 40 | — | 59,0 | — | — | 69,0 | — | — | 70,0 | — | — | 75,0 | — |
| 50 | 28,0 | — | 24,0 | 44,0 | — | 50,0 | 51,0 | — | 50,0 | 52,0 | — | 54,0 |
| 80 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 110 | 44,0 | — | 33,0 | 49,0 | — | 53,0 | 57,0 | — | 54,0 | 57,0 | — | 57,0 |
| 900 | 61,0 | 70,0 | 59,0 | 62,0 | 77,0 | 64,0 | 62,0 | 75,0 | 64,0 | 63,0 | 80,0 | 66,0 |
| | | | | | Defibriniert. | | | | | | | |
| 5 | — | 17,0 | — | — | 66,0 | — | — | 69,0 | — | — | 70,0 | — |
| 10 | 1,0 | — | 0,5 | 16,0 | — | 3,5 | 22,0 | — | 5,0 | — | — | 7,0 |
| 15 | — | 60,0 | — | — | 85,0 | — | — | 87,0 | — | — | 87,0 | — |
| 20 | 4,0 | — | — | 39,0 | — | — | 39,0 | — | — | — | — | — |
| 25 | — | 78,0 | — | — | 89,0 | — | — | 88,0 | — | — | 90,0 | — |
| 30 | — | — | 3,0 | — | — | 22,0 | — | — | 28,0 | — | — | 28,0 |
| 40 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 50 | 28,0 | 87,0 | 16,0 | 53,5 | 90,0 | 37,0 | 51,0 | 90,0 | 37,0 | — | 91,0 | 40,0 |
| 80 | — | — | 34,0 | — | — | 46,0 | — | — | 45,0 | — | — | 47,0 |
| 110 | 46,0 | — | — | 58,0 | — | — | 57,0 | — | — | — | — | — |
| 900 | 60,0 | 92,0 | 56,0 | 60,0 | 94,0 | 60,0 | 62,0 | 93,0 | 64,0 | — | 96,0 | 62,0 |

Blute das Maximum der Schüttelwirkung auf. Beim Citratblut, wo die $O_2$-Wirkung eine sehr große ist, ist die absolute Senkungshöhe beim geschüttelten Blute immer noch größer als im mit $O_2$ gesättigten Blute.

Die Wirkung des Schüttelns ist besonders im defibrinierten Blute eine überaus große; so verursacht sie im vertikalen Rohre einen 3- bis 40fach schnelleren Ablauf der Senkung. Auch bei anderen Tierarten ist die Schüttelwirkung nachzuweisen, wenn auch nicht in so hohem Maße wie bei Pferdeblut. In Tabelle V ist das Blut einer Hündin in der Weise untersucht angegeben.

*Tabelle V.*

Weibliches Hundeblut (Oxalatplasma). Freie Plasmahöhen in Millimetern.

| Zeit in Min. | 90° | | | 67½° | | | 45° | | | 22½ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ |
| 20 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,50 | 1,00 | 1,50 | 1,00 | 8,50 | 6,00 | 2,50 | 7,00 | 8,50 |
| 40 | 0,25 | 0,50 | 0,50 | 2,00 | 4,00 | 2,50 | 7,00 | 17,00 | 12,00 | 11,00 | 17,00 | 14,00 |
| 60 | 0,50 | 1,00 | 1,00 | 4,00 | 8,00 | 6,00 | 12,00 | 22,00 | 18,00 | 20,00 | 27,00 | 21,00 |
| 80 | 0,50 | 1,25 | 1,00 | 8,00 | 11,00 | 10,00 | 12,00 | 26,00 | 22,00 | 22,00 | 30,00 | 26,00 |
| 100 | 0,75 | 1,25 | 1,25 | 10,00 | 13,00 | 13,00 | 13,50 | 31,00 | 26,00 | 27,00 | 35,00 | 29,00 |
| 120 | 1,00 | 1,50 | 1,75 | 12,00 | 16,00 | 14,00 | 17,00 | 32,00 | 28,00 | 27,00 | 38,00 | 32,00 |
| 250 | 2,00 | 3,00 | 2,50 | 17,00 | 22,00 | 19,00 | — | 41,00 | — | — | 42,00 | — |
| 390 | 2,50 | 4,00 | 3,00 | 24,00 | 29,00 | 34,00 | 29,00 | 46,00 | 45,00 | 43,00 | 51,00 | 47,00 |
| 1080 | 3,50 | 5,50 | 6,00 | 30,00 | 37,00 | 44,00 | 36,00 | 51,00 | 52,00 | 48,00 | 59,00 | 55,00 |
| 1710 | 4,00 | 6,00 | 7,00 | 31,00 | 40,00 | 45,00 | 38,00 | 54,00 | 53,00 | 50,00 | 60,00 | 56,00 |

n = Nicht geschüttelt; g = Geschüttelt; $O_2$ = $O_2$-gesättigt.

In den vertikalen Röhren ist eine Wirkung des Schüttelns nicht nachweisbar, in den schiefen Röhren aber ist eine Beschleunigung konstant zu beobachten, wenn sie auch bei 67½° gering ist. Die Schüttelwirkung geht in den feineren Details nicht ganz parallel mit den beim Pferdeblute beobachteten Resultaten, indem das Maximum der Verschiebung zugunsten der schnelleren Senkung im geschüttelten Blute in die schief gestellten Röhren verschoben ist. Obgleich $O_2$-Sättigung in allen Fällen eine Beschleunigung der Senkung verursacht, ist die Schüttelwirkung meist größer als die $O_2$-Wirkung. Dies ist um so merkwürdiger, als wir beim männlichen Hundeblute in mehreren Fällen diese Erscheinung nicht beobachten konnten. Wir haben schon in der vorangehenden Mitteilung männliches Hundeblut als Versuchsbeispiel dafür gewählt, um die durch $O_2$-Sättigung oft beobachtbare Beschleunigung der Senkung zu demonstrieren. Beim männlichen Hundeblute konnten wir auch beobachten, daß die Wirkung der $O_2$-Sättigung eine größere war als die des Schüttelns.

*Tabelle VI.*

Männliches Hundeblut (Citratplasma). Freie Plasmahöhen in Millimetern.

| Zeit in Min. | 90° | | | 67½° | | | 45° | | | 22½° | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ | n | g | $O_2$ |
| 15 | 0,50 | 3,50 | 3,00 | 7,00 | 30,00 | 21,00 | 16,00 | 44,00 | 48,00 | 28,00 | 56,00 | 60,00 |
| 30 | 1,25 | 9,50 | 8,50 | 28,00 | 56,00 | 62,00 | 51,00 | 67,00 | 77,00 | 60,00 | 73,00 | 86,00 |
| 45 | 2,25 | 12,50 | 18,00 | 52,00 | 63,50 | 77,00 | 67,00 | 72,00 | 83,00 | 78,00 | 76,00 | 88,00 |
| 80 | 9,00 | 18,00 | 33,00 | 62,00 | 69,00 | 84,00 | 74,00 | 75,00 | 96,00 | 82,00 | — | 91,00 |
| 830 | 61,00 | 67,00 | 76,00 | 78,00 | 78,00 | 89,00 | 82,00 | 83,00 | 89,00 | 85,00 | 86,00 | 81,00 |

n = Nicht geschüttelt; g = Geschüttelt; $O_2$ = $O_2$-gesättigt.

In Tabelle VI haben wir einen Versuch mit einem sehr schnell sinkenden Blute eines Hundes angeführt, welcher kurz vorher an einem Abszeß litt. Schon bei 90° ist der Unterschied sehr groß. Die

Schüttelwerte bleiben — außer im Beginn des Versuches — hinter den $O_2$-Werten zurück, woraus hervorgeht, daß in diesem Falle das Schütteln keine Beschleunigung der Senkung, sondern sogar eine relative Verlangsamung verursacht.

Aus den bisher angeführten Versuchen ergibt sich also, daß, obwohl die Schüttelwirkung beim Pferdeblute sehr regelmäßig nachzuweisen ist, diese Wirkung bei den verschiedenen Tieren nicht gleich groß ist, und zwar ist sie nicht an die Tierart gebunden, weswegen wir auch den Versuch mit weiblichem Hundeblute mitteilen. Nur an noch größerem Material wird es möglich sein, den Zusammenhang zwischen physiologischem Zustand des Blutes und der Schüttelwirkung aufzufinden.

Um den Mechanismus der Schüttelwirkung näher zu erkennen, haben wir die mittleren Geschwindigkeiten beim Pferdeblute (Versuch in den vertikalen Röhren) berechnet.

*Tabelle VII.*

Weibliches Pferdeblut: 90°.

| Venös | | | | | Geschüttelt | | | | | $O_2$-gesättigt | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $t$ | $s$ | $t_2-t_1$ | $s_2-s_1$ | $100\frac{(s_2-s_1)}{t_2-t_1}$ | $t$ | $s$ | $t_2-t_1$ | $s_2-s_1$ | $100\frac{(s_2-s_1)}{t_2-t_1}$ | $t$ | $s$ | $t_2-t_1$ | $s_2-s_1$ | $100\frac{(s_2-s_1)}{t_2-t_1}$ |
| Oxalatplasma. | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 1,25 | 5 | 1,25 | 25 | 5 | 10,50 | 5 | 10,50 | 210 | 5 | 1 | 5 | 1 | 20 |
| — | — | — | — | — | 8 | 23,00 | 3 | 12,50 | 250 | 8 | 1,75 | 3 | 0,75 | 25 |
| 10 | 2,00 | 5 | 0,75 | 15 | 10 | 40,00 | 2 | 17,00 | 340 | 10 | 2,50 | 2 | 0,75 | 37 |
| 15 | 5,00 | 5 | 3,00 | 60 | 15 | 53,00 | 5 | 13,00 | 260 | 15 | 4,00 | 5 | 1,5 | 30 |
| 20 | 15,00 | 5 | 10,00 | 200 | 20 | 62,00 | 5 | 9,00 | 180 | 20 | 7,50 | 5 | 3,5 | 70 |
| 25 | 23,00 | 5 | 8,00 | 160 | 25 | 68,00 | 5 | 6,00 | 120 | 25 | 30,00 | 5 | 22,5 | 450 |
| 30 | 35,00 | 5 | 12,00 | 240 | 30 | 71,00 | 5 | 3,00 | 60 | 30 | 46,00 | 5 | 16,0 | 320 |
| 40 | 42,00 | 10 | 7,00 | 120 | — | — | — | — | — | 35 | 51,00 | 5 | 5,0 | 100 |
| — | — | — | — | — | 90 | 79,00 | 60 | 8,00 | 13,3 | 135 | 74,00 | 100 | 24,0 | 24 |
| 760 | 71,0 | 720 | 29,00 | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Citratplasma. | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 2,00 | 5 | 2 | 40,0 | 5 | 15,00 | 5 | 15,00 | 300 | 5 | 1,75 | 5 | 1,75 | 35 |
| — | — | — | — | — | 8 | 26,00 | 3 | 11,00 | 366 | 8 | 2,50 | 3 | 0,75 | 25 |
| 10 | 4,00 | 5 | 2 | 40,0 | 10 | 40,00 | 2 | 14,00 | 700 | 10 | 4,00 | 2 | 1,50 | 75 |
| 15 | 32,00 | 5 | 28 | 560,0 | 15 | 56,00 | 5 | 16,00 | 320 | 15 | 7,00 | 5 | 3,00 | 60 |
| 20 | 55,00 | 5 | 23 | 460,0 | 20 | 64,00 | 5 | 8,00 | 160 | 20 | 16,00 | 5 | 9,00 | 140 |
| 25 | 62,00 | 5 | 7 | 140,0 | 25 | 67,00 | 5 | 3,00 | 60 | 25 | 41,00 | 5 | 15,00 | 300 |
| 30 | 69,00 | 5 | 7 | 140,0 | 30 | 74,00 | 5 | 7,00 | 120 | 30 | 58,00 | 5 | 17,00 | 340 |
| 40 | 75,00 | 10 | 6 | 60,0 | — | — | — | — | — | 35 | 63,00 | 5 | 5,00 | 100 |
| — | — | — | — | — | 90 | 77,00 | 60 | 3,00 | 5 | — | — | — | — | — |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 135 | — | 100 | 19,00 | 19 |

$t$, $t_1$, $t_2$ = Zeiten; $s$, $s_1$, $s_2$ = Senkungshöhen; $100\frac{s_2-s_1}{t_2-t_1}$ = Geschwindigkeit.

Das $O_2$-gesättigte und das venöse Blut verhalten sich gleichmäßig, was die Veränderung der Geschwindigkeit betrifft. Anfangs ist die

*Tabelle VIII.*

Weibliches Pferdeblut: 90°.

| | Venös | | | | | Geschüttelt | | | | | $O_2$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $t$ | $s$ | $t_2-t_1$ | $s_2-s_1$ | $100\frac{(s_2-s_1)}{t_2-t_1}$ | $t$ | $s$ | $t_2-t_1$ | $s_2-s_1$ | $100\frac{(s_2-s_1)}{t_2-t_1}$ | $t$ | $s$ | $t_2-t_1$ | $s_2-s_1$ | $100\frac{(s_2-s_1)}{t_2-t_1}$ |
| | | | | | | | Citratplasma. | | | | | | | | |
| $t_1$ | 15 | 3,5 | 15 | 3,5 | 23,3 | 15 | 15,0 | 15 | 15 | 100,0 | 15 | 3,5 | 15 | 3,5 | 23,3 |
| $t_2$ | 30 | 11,0 | 15 | 7,0 | 46,7 | 30 | 37,0 | 15 | 22 | 147,0 | 30 | 7,0 | 15 | 3,5 | 23,3 |
| $t_3$ | 45 | 32,0 | 15 | 21,0 | 140,0 | 45 | 51,0 | 15 | 14 | 93,0 | 45 | 19,0 | 15 | 12,0 | 80,0 |
| $t_4$ | 85 | 58,0 | 40 | 26,0 | 65,0 | 85 | 65,0 | 40 | 14 | 35,0 | 85 | 52,0 | 40 | 33,0 | 81,5 |
| $t_5$ | 1340 | 76,0 | 1255 | 18,0 | 1,4 | 1340 | 75,0 | 1255 | 10 | 0,8 | 1340 | 73,0 | 1255 | 21,0 | 1,7 |
| | | | | | | | Oxalatplasma. | | | | | | | | |
| | 15 | 1,5 | 15 | 1,5 | 10,0 | 15 | 16,0 | 15 | 16 | 107 | 15 | 2,0 | 15 | 2,0 | 13,3 |
| | 30 | 5,0 | 15 | 3,5 | 23,3 | 30 | 35,0 | 15 | 19 | 127 | 30 | 3,25 | 15 | 1,25 | 8,3 |
| | 45 | 23,0 | 15 | 18,0 | 120,0 | 45 | 46,0 | 15 | 11 | 73,3 | 45 | 6,0 | 15 | 2,75 | 18,3 |
| | 80 | 49,0 | 35 | 26,0 | 74,3 | 80 | 56,0 | 35 | 10 | 28,6 | 80 | 49 | 35 | 23,0 | 73,1 |
| | 1340 | 68,0 | 1260 | 19,0 | 1,5 | 1340 | 68,0 | 1260 | 12 | 1,0 | 1340 | 65 | 1260 | 16,0 | 1,4 |

$t$, $t_1$, $t_2$ = Zeiten; $s$, $s_1$, $s_2$ = Senkungshöhen; $100\frac{s_2-s_1}{t_2-t_1}$ = Geschwindigkeit.

Geschwindigkeit gering, wird dann viel größer, um später wieder abzunehmen. Der zeitliche Ablauf dieser Veränderungen fällt in beiden Blutproben annähernd zusammen. Auch bei den geschüttelten Proben finden wir im Beginn eine Zunahme der Geschwindigkeit, aber die Blutkörperchen beginnen schon mit einer achtfach größeren Geschwindigkeit ihre Bewegung im zweiten Blute und einer vier- bis zehnfach größeren im ersten Blute. Das Maximum der Geschwindigkeit wird bei den geschüttelten Proben auch früher erreicht, um dann früher und rapider abzunehmen.

Damit ist aber auch gezeigt, daß in diesem Falle der qualitative Ablauf der Senkung wesentlich verändert ist, was wieder ein neuer Beweis für die Notwendigkeit der Untersuchung der *Bewegungsart* der Senkung ist gegenüber der heute üblichen Methode des Vergleiches einzelner Messungen der Senkungshöhen.

Die erhöhte Senkungsgeschwindigkeit im geschüttelten Blute ist deswegen von besonderem Interesse, weil man a priori eben das Entgegengesetzte anzunehmen geneigt wäre, denn das Schütteln verursacht ja sicherlich eher eine Trennung der verklebten roten Blutkörperchen als eine Agglutination, und dadurch wird die Reibungsoberfläche zwischen Blutkörperchen und Interzellularflüssigkeit größer, was zu einer Verlangsamung der Senkung führen müßte. Um so auffallender ist nun, daß diese Erscheinung besonders deutlich in jenen Blutarten zur Beobachtung kommt, die zur Agglutination am meisten neigen, wie das Pferdeblut.

Durch das Schütteln muß eine tiefgreifende Veränderung der Blutkörperchenoberfläche stattfinden, wie dies die Untersuchungen von *Meltzer*[1]) und *Meltzer* und *Welch*[2]) gezeigt haben.

Diese Autoren konnten nachweisen, daß schon ein kurzes Schütteln einen viel bedeutenderen Zerfall der roten Blutkörperchen verursachen kann. Die verschiedenen Blutarten verhielten sich diesbezüglich sehr verschieden. Beim Hundeblute z. B. verursacht schon ein etwa 8 Minuten langes Schütteln mit der Hand einen gut nachweisbaren Unterschied im Zerfall der roten Blutkörperchen. Sie konnten auch zeigen, daß eine gewisse minimale Schüttelung den spontanen Zerfall der roten Blutkörperchen hemmt.

Diese Beobachtungen stehen im besten Einklange mit den unsrigen. Zweifellos verursacht nicht der erhöhte Zerfall der roten Blutkörperchen die erhöhte Senkung, denn diese Erscheinung tritt nur ganz allmählich ein. Aber beide sind auf dieselbe Grundursache zurückzuführen. Die roten Blutkörperchen enthalten in ihrer Oberfläche leicht adsorbierbare Substanzen, welche den Austritt des Hämoglobins verhindern [*Berczeller*[3])], denn wenn wir das Blut mit Adsorbenzien vermischen, tritt Hämolyse ein, welche durch schwaches Schütteln sehr verstärkt wird. Die roten Blutkörperchen enthalten aber in ihrer Oberfläche auch solche Substanzen adsorbiert, welche die Hämolyse fördern [*Brinkmann* und *van Dam*[4]), *Brinkmann* und *Wastl*[5])]. Diese beiden Arten von Substanzen können durch Schütteln aus der Blutkörperchenoberfläche entfernt werden, da das Schütteln ebenso wie ein Adsorbens auf die roten Blutkörperchen einwirkt. Dies ist nicht nur dadurch verursacht, daß infolge des Schüttelns die oberflächenaktiven Substanzen sich zwischen Luft/Blutoberfläche und Blutkörperchen/Plasmaoberfläche verteilen müssen, sondern auch dadurch, weil die Eiweißkörper während des Schüttelns eine Fällung durchmachen, was einerseits dazu führen kann, daß in der Weise immer mehr und mehr adsorbierbares Eiweiß aus der Oberfläche der roten Blutkörperchen entfernt wird, andererseits aber, daß infolge des Schüttelns die Klebrigkeit des Plasmas (und Serums) erhöht wird.

Jedenfalls geht in dem Falle die Verminderung der Oberflächenkonzentration mit einer erhöhten Senkung zusammen; eine nähere Analyse der Erscheinung wird erst zweckmäßigerweise nach der Untersuchung der zeitlichen Veränderung des Fibrinogens im Blute (in vitro) sowie nach der Untersuchung der Einwirkung der verschiedenen gerinnungshemmenden Substanzen auf die Senkung stattfinden können.

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. **12**, 1894; *John Hopkins*, Hosp. Reports **9**, 135.
[2]) Journ. of Physiol. **5**.
[3]) Diese Zeitschr. **188**, 1922.
[4]) Ebendaselbst **108**, 1920.
[5]) Ebendaselbst **124**, 1921.

# Bestimmung des Organkalkes nach de Waard.

Von

**Gerhard Hecht.**

[Aus dem pharmakologischen Institut zu Göttingen[1]).]

*(Eingegangen am 11. Oktober 1923.)*

Eine „Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen" wurde vor einigen Jahren von *de Waard* (1) beschrieben und hat sich, namentlich in ihrer Modifikation mit direkter Fällung im Serum, in der Klinik eingebürgert und offenbar gut bewährt. Wieweit die gleiche Methode für die Analyse beliebiger Organe auf Calcium geeignet sei, schien lohnend zu untersuchen, denn in bezug auf Einfachheit, Schnelligkeit und Genauigkeit genügt sie hohen Ansprüchen, während z. B. *Heubner* und *Rona* (2), die Organanalysen nach der Methode von *Jansen* (3) ausführten, bis zu 20 Proz. größten möglichen Fehler zugeben zu müssen glaubten, obwohl diese Methode recht zeitraubend ist und ziemlich große Organmengen beansprucht. Die Besonderheit der Vorschrift von *de Waard* besteht nun darin, daß das als Oxalat gefällte Calcium nicht filtriert, sondern durch mehrfaches Zentrifugieren und Wiederaufschwemmen in Wasser gereinigt und schließlich mit n/100 Kaliumpermanganat titriert wird. Bezüglich der Fällung des Calciumoxalats weicht sie von den üblichen Methoden (4) insofern ab, als die salzsaure Lösung der Asche ohne weitere Vorbehandlung nach Zusatz von Ammonoxalat in der Hitze mit Ammoniak überneutralisiert und mit Eisessig wieder angesäuert wird, während sonst die Entfernung der Phosphorsäure und des Eisens für eine saubere Fällung für notwendig gehalten wird. Ich machte es mir daher zur Aufgabe, zu untersuchen:

a) welche Mengen anderer Aschenbestandteile bei unmittelbarer Fällung nach *de Waard* noch erträglich sind,

b) welche Genauigkeit man mit dieser Methode bei verschiedenen Ca-Mengen erreichen kann.

Als Körper, welche die saubere Fällung des Calciumoxalats beeinträchtigen können, kommen Phosphorsäure, Magnesium und Eisen in Frage.

---

[1]) Die Kosten der Untersuchung wurden aus einer Zuwendung der *Notgemeinschaft* der deutschen Wissenschaft bestritten, der hierdurch öffentlich gedankt sei.

1. Phosphorsäure kann unter Umständen als Calcium- oder auch als Tripelphosphat ausfallen. Dies ist einfach dadurch zu vermeiden, daß man die Lösung mit Eisessig hinreichend ansäuert.

2. Magnesium kann — was allerdings selten vorkommen wird — Calciumoxalat in Lösung halten, wenn nämlich die zugesetzte Oxalsäure nicht hinreichend ist, um die vorhandene Menge des Calciums *und* Magnesiums zu binden; dies war bereits *Fresenius* (5) bekannt. Andererseits ist aber die Löslichkeit des Magnesiumoxalats sehr gering; sie wird besser bei Gegenwart von Ammonchlorid. Diese Verhältnisse sind durch die Untersuchungen von *Richards* (6) festgelegt, dessen Vorschriften für die Trennung von Calcium und Magnesium folgende sind: „Das Magnesium soll in der Lösung nicht in größerer Konzentration als n/50 vorhanden sein; zu dem Lösungsgemisch wird etwa die zehnfach äquivalente Menge Ammonchlorid zugesetzt, ferner fügt man eine hinreichende Quantität Oxalsäure hinzu, um alles Calcium zu binden. Es ist zweckmäßig, die Dissoziation der Oxalsäure vorher durch Zusatz ihrer drei- bis vierfach äquivalenten Menge Salzsäure herabzudrücken. Zu der kochenden, durch einen Tropfen Methylorange gefärbten Lösung wird unter andauerndem Rühren mit gelegentlichen Pausen sehr verdünntes Ammoniak hinzugefügt. Das Ende der Neutralisation soll erst in einer halben Stunde erreicht werden. Nach dem Neutralisieren wird ein großer Überschuß Ammonoxalat zu der Lösung hinzugegeben, und hierauf läßt man die Lösung etwa 4 Stunden stehen."

3. Eisen könnte mit Oxalsäure eine wenig lösliche Verbindung geben, wenn es durch dieselbe zur Ferrostufe reduziert wird. Doch wird dies nach den Erfahrungen der Analytiker (7) durch die Gegenwart von Phosphorsäure sehr erschwert. Ferriphosphat bleibt bei Gegenwart von Oxalsäure und essigsaurer Reaktion in Lösung.

Theoretisch konnte man also erwarten, daß gewisse Mengen von Phosphorsäure, Magnesium und Eisen bei der Calciumoxalatfällung erträglich seien. Die quantitativen Verhältnisse wurden nun in den mitgeteilten Probeanalysen untersucht. Hierbei habe ich in folgender Weise gearbeitet: Künstlich hergestellte, salzsaure Gemische mit bekanntem Gehalt an Ca, Mg, $PO_4$ und $Fe^{\cdots}$ wurden in einem Volumen von 15 bis 20 ccm, wie es den nach *de Waard* konstruierten Zentrifugengläsern entspricht, nach der Originalvorschrift behandelt. Von dieser bin ich nur wenig abgewichen: Bei der Neutralisation habe ich, um den Vorschriften von *Richards* näherzukommen, nach Zufügung eines Tropfens Indikator (1 Proz. Methylrot in Alkohol) verdünntes Ammoniak (von etwa 2 Proz.) tropfenweise zufließen lassen, bis eben der Neutralpunkt überschritten war, darauf 2 bis 5 Tropfen Eisessig zugesetzt und dann 4 Stunden stehenlassen. Ferner habe ich statt der von *de Waard* vorgeschriebenen 0,5 ccm Ammonoxalat stets mindestens 2 ccm ver-

wendet und nach der Fällung noch einen Überschuß hinzugefügt. Dies ist bei der größeren Flüssigkeitsmenge notwendig, die man unter voller Ausnutzung des Volumens des Zentrifugierröhrchens braucht, damit die Konzentration der störenden Körper nicht zu groß wird.

Beim Zentrifugieren hat es sich als zweckmäßig erwiesen, folgendermaßen zu verfahren: Nach dem ersten Zentrifugieren hebt man die Flüssigkeit mit einer fein ausgezogenen Pipette, deren unterstes Ende hakenförmig nach oben umgebogen ist, bis unmittelbar über den Niederschlag ab, wäscht zunächst mit der Spritzflasche die Wand des Gefäßes mit einer größeren Wassermenge ab, ohne etwas vom Niederschlage aufzuwirbeln, wiederholt dies nochmals und wirbelt erst zuletzt den Niederschlag in kleiner Flüssigkeitsmenge auf, um dieselbe schließlich nach Zentrifugieren zu entfernen.

Beim Titrieren konnte ich die zur Färbung notwendige Menge n/100 Kaliumpermanganatlösung dadurch am sichersten bestimmen, daß ich in ein zweites, ganz gleiches, mit verdünnter Schwefelsäure gleichweit gefülltes Gläschen so lange Permanganat einfließen ließ, bis seine Farbe der des ersten, in dem eben bis zur bleibenden Rosafärbung titriert war, gleich wurde.

Die Ergebnisse der nach dem geschilderten Verfahren ausgeführten Analysen finden sich auf Tabelle I bis IV. Sie zeigen, daß bei einer Ca-Menge von 1 bis 0,1 mg die Gegenwart der 100fachen Phosphor- (also 300fachen $PO_4$-) Menge die Analysengenauigkeit nicht vermindert; ein größerer Überschuß kommt bei Organanalysen niemals in Frage. Das Magnesium soll nach *Richards* n/50 nicht überschreiten, also hier nicht mehr als 4 bis 5 mg betragen; der Versuch (Nr. 8) zeigt, daß auch 7 mg noch nicht stören. Was das Eisen angeht, so bedingt es bei gleichzeitiger Gegenwart von 5 mg Magnesium Fehler, wenn es die Menge von 2,5 mg überschreitet (Nr. 28 und 29, 34 bis 38), andererseits machen 5 mg Eisen bei wenig Magnesium keinen sicheren Fehler (Nr. 30 bis 33).

Auf Organgewichte übertragen, bedeutet dies, daß die größte Menge frischen Organs, deren Calcium man in einem Zentrifugierglase analysieren kann, bei einem Magnesiumgehalt bis zu 40 mg auf 100 g etwa 10 bis 12 g beträgt, bei eisenreichen Organen mit Werten bis 80 mg Eisen auf 100 g (Leber, Milz, Lunge, Blut) beträgt sie 5 bis 6 g. Diese Mengen sind gegenüber den von *de Waard* angegebenen ½ bis 1½ ccm Serum groß, doch ist dies sehr günstig, weil die Genauigkeit dabei eine erheblich bessere wird; denn ich muß *Blühdorn* und *Genk* (8) zustimmen, wenn sie sagen, daß die gefundenen Werte — bei Mengen von etwa 0,1 mg Calcium — bis zu 4 Proz. vom reellen Wert abweichen. Bei 0,5 mg ist der Fehler aber nur halb so groß, und bei 1,0 mg nur etwa $\pm$ 1 Proz.

Was die Genauigkeit der Titration an sich angeht, so fand ich beim Nachprüfen mit n/100 Oxalsäure die Fehler nur etwa halb so

groß wie bei den Calciumanalysen mit entsprechenden Mengen; der Fehler der Analysen beruht also wohl zum Teil darauf, daß ein Teil des Niederschlages beim Zentrifugieren an der Wand des Gefäßes haftet und der Gefahr des Abpipettiertwerdens ausgesetzt ist, worauf bereits *Blühdorn* und *Genk* (8) aufmerksam machten.

## Zusammenfassung.

Die Calciumanalyse nach *de Waard* liefert noch bei 0,1 mg Ca Werte, die weniger als. 5 Proz. vom reellen Wert abweichen; sie wird überdies durch die Gegenwart von Phosphorsäure, Magnesium und Eisen in den angegebenen Grenzen nicht beeinträchtigt, so daß sie an Genauigkeit und Bequemlichkeit gegenüber den früheren Arten der Organkalkbestimmung einen erheblichen Fortschritt bedeutet. Dazu kommt noch, daß man sie mit weit geringeren Substanzmengen ausführen kann.

## Analysen.

1. 2 ccm einer $CaCl_2$-Lösung ergaben in vier Gewichtsanalysen 23,9, 23,8, 23,9 und 23,9 mg CaO. Von einer Verdünnung dieser Lösung auf das 40fache wurden je 5 ccm, die also je 1,068 mg Ca enthielten, nach *de Waard* analysiert. Es wurde gefunden:

*Tabelle I.*

| Nr. | Verbraucht 0,00958 n $KMnO_4$ | Gefunden Ca | Fehler in Proz. |
|---|---|---|---|
| 1 | 5,55 ccm | 1,063 mg | — 0,5 |
| 2 | 5,58 „ | 1,070 „ | + 0,2 |
| 3 | 5,61 „ | 1,073 „ | + 0,5 |
| 4 | 5,57 „ | 1,067 „ | — 0,1 |

2. Von einer etwa n/100 $CaCl_2$-Lösung wurden je 5 ccm analysiert. Zugesetzt wurden verschiedene Mengen einer Lösung von 9proz. $MgCl_2$ . 6 aqua (1 ccm = 10 mg Mg) und einer Lösung von 31 Proz. $NaH_2PO_4$ . 4 aqua (1 ccm = 50 mg P). Die Resultate zeigt Tabelle II.

*Tabelle II.*

| Nr. | Zugesetzt | | Verbraucht 0,00958 n $KMnO_4$ | Fehler (= Abweichung vom Mittel 5,29 ccm) |
|---|---|---|---|---|
| | Mg mg | P mg | ccm | Proz. |
| 5 | 4 | — | 5,28 | — 0,2 |
| 6 | 5 | — | 5,25 | — 0,8 |
| 7 | 6 | — | 5,34 | + 0,9 |
| 8 | 7 | — | 5,28 | — 0,2 |
| 9 | 5 | 25 | 5,34 | + 0,9 |
| 10 | 5 | 50 | 5,30 | + 0,2 |
| 11 | 5 | 100 | 5,26 | — 0,6 |
| 12 | 5 | 100 | 5,30 | + 0,2 |

3. Die unter 1. beschriebene $CaCl_2$-Lösung wurde auf das 100fache verdünnt und hiervon je 5 ccm (= 0,427 mg Ca) analysiert. Zugesetzt wurden verschiedene Mengen der unter 2. genannten $MgCl_2$- und $NaH_2PO_4$-Lösungen und einer 0,56 n $FeCl_3$-Lösung (1 ccm = 10 mg Fe). Die Ergebnisse waren folgende:

*Tabelle III.*

| Nr. | Zugesetzt Mg mg | P mg | Fe mg | Verbraucht 0,00958 n $KMnO_4$-Lösung ccm | Gefunden Ca mg | Fehler in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 13 | — | — | — | 2,19 | 0,420 | — 1,6 |
| 14 | — | — | — | 2,21 | 0,424 | — 0,7 |
| 15 | 2 | 25 | — | 2,21 | 0,424 | — 0,7 |
| 16 | 2 | 25 | — | 2,23 | 0,428 | + 0,2 |
| 17 | 5 | 50 | — | 2,24 | 0,430 | + 0,7 |
| 18 | 5 | 50 | — | 2,23 | 0,428 | + 0,2 |
| 19 | 5 | 50 | — | 2,27 | 0,435 | + 1,9 |
| 20 | — | — | 1 | 2,22 | 0,426 | — 0,2 |
| 21 | — | — | 10 | 2,23 | 0,428 | + 0,2 |
| 22 | — | 1,7 | 5 | 2,19 | 0,420 | — 1,6 |
| 23 | — | 50 | 5 | 2,19 | 0,420 | — 1,6 |
| 24 | — | 50 | 5 | 2,23 | 0,428 | + 0,2 |
| 25 | — | 50 | 10 | 2,24 | 0,430 | + 0,7 |
| 26 | 2 | 25 | 1 | 2,22 | 0,426 | — 0,2 |
| 27 | 2 | 25 | 1 | 2,27 | 0,435 | + 1,9 |
| 28 | 5 | 50 | 2,5 | 2,20 | 0,422 | — 1,2 |
| 29 | 5 | 50 | 2,5 | 2,22 | 0,426 | — 0,2 |
| 30 | 2 | 50 | 5 | 2,27 | 0,435 | + 1,9 |
| 31 | 2 | 50 | 5 | 2,28 | 0,437 | + 2,3 |
| 32 | 3 | 50 | 5 | 2,26 | 0,433 | + 1,4 |
| 33 | 4 | 50 | 5 | 2,25 | 0,431 | + 0,9 |
| 34 | 5 | 50 | 5 | 2,12 | 0,407 | — 4,7 |
| 35 | 5 | 50 | 5 | 2,16 | 0,415 | — 2,8 |
| 36 | 5 | 50 | 10 | 2,03 | 0,389 | — 8,9 |
| 37 | 5 | 50 | 10 | 2,06 | 0,395 | — 7,5 |
| 38 | 10 | 50 | 10 | 2,07 | 0,397 | — 7,0 |
| 39 | 10 | — | 10 | 2,88 | 0,552 | + 29,2 |

4. Die etwa n/100 $CaCl_2$-Lösung von 2. auf 1 : 10 verdünnt. Je 5 ccm davon (etwa 0,1 mg Ca) analysiert, Nr. 42 bis 47 unter Zusatz von je 0,1 ccm $MgCl_2$-Lösung (1 mg Mg) und 0,5 ccm $NaH_2PO_4$-Lösung (25 mg P).

*Tabelle IV.*

| Nr. | Verbraucht 0,00958 n $KMnO_4$-Lösung ccm | Fehler in Proz. | Nr. | Verbraucht 0,00958 n $KMnO_4$-Lösung ccm | Fehler in Proz. |
|---|---|---|---|---|---|
| 40 | 0,54 | + 2 | 44 | 0,53 | 0 |
| 41 | 0,52 | — 2 | 45 | 0,54 | + 2 |
| 42 | 0,54 | + 2 | 46 | 0,53 | 0 |
| 43 | 0,51 | — 4 | 47 | 0,53 | 0 |

**Literatur.**

1) Diese Zeitschr. **97**, 176, 1919. — 2) Ebendaselbst **98**, 353, 1919; **135**, 248, 1923. — 3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 176, 1918. — 4) Z. B. *Aron*, Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. **1**, 405. — 5) *Fresenius*, Lehrbuch der quantitativen Analyse, 6. Aufl., **1**, 556. — 6) Zeitschr. f. analyt. Chemie **28**, 71, 1901. — 7) Nach mündlicher Mitteilung von Herrn Privatdozenten Dr. *Jander*, Göttingen. — 8) Diese Zeitschr. **135**, 581, 1923.

# Zur Kenntnis der Fermente in der Placenta.

Von

**Kiyomitsu Maeda** (Tokio, Japan).

(Aus der chemischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

*(Eingegangen am 11. Oktober 1924.)*

Bei der Wichtigkeit der Placenta für die Entwicklung des Fötus hat man sich seit langem bemüht, einen Einblick zu gewinnen in die biologischen Vorgänge, die sich bei dem Durchtritt des mütterlichen und kindlichen Blutes durch die Placenta abspielen. Da für diese in erster Reihe die Fermente maßgebend sind, hat man naturgemäß sein Hauptaugenmerk auf den Gehalt und die Beschaffenheit der Fermente in der Placenta gerichtet. Soweit diese Untersuchungen auch zurückliegen und so viele Forscher sich auch bemüht haben, Klarheit in diese Frage zu bringen, so sind noch bis heutigen Tages verschiedene Widersprüche vorhanden. Das mag zum größten Teile seine Erklärung darin finden, daß die einzelnen Autoren mit verschiedenen Methoden arbeiteten, zum Teil aber auch darin, daß für einzelne Fragestellungen die Methoden unzureichend waren. Es scheint deshalb wünschenswert, an die noch strittigen Punkte mit den neuesten Methoden der Fermentforschung heranzutreten. Außerdem war ich bestrebt, noch auf andere bisher nicht berücksichtigte Fermente zu achten, die für den Nahrungsaustausch zwischen Mutter und Kind vielleicht eine Bedeutung haben könnten. So haben wir die menschliche Placenta auf folgende Fermente untersucht:

A. Von kohlenhydratspaltenden Fermenten — Diastase, Lactase, Invertase, Glykolyse, Carboxylase.

B. Von eiweißspaltenden Fermenten — Trypsin bzw. Erepsin, Pepsin, Lab.

C. Von fettspaltenden Fermenten — Monobutyrase, Tributyrase.

D. Von sonstigen Fermenten — Salicylase, Histozym und verschiedene Oxydasen.

Meistens arbeitete ich mit dem frischen, blutfreien Placentagewebe, das durch fließendes Wasser vom Blute befreit wurde, und mit der Fleischmaschine zerkleinert und dann im Mörser fein zerrieben wurde. Es wurden aber auch gleichzeitig Versuche mit Placentapulver angestellt. Dieses wurde so bereitet, daß das zerkleinerte und blutfreie gewaschene Gewebe einen Tag in etwa 92proz. Alkohol belassen, dann

vom Alkohol getrennt und in Aceton auf 24 Stunden übertragen und schließlich vom Aceton befreit wurde. Dann wurde das so getrocknete Gewebe in einer Reibeschale gründlich verrieben und die fein pulverisierte Masse von den groben Bindegewebsbestandteilen getrennt. In der Hauptsache aber wurde frisches Placentagewebe für unsere Fermentuntersuchungen verwandt. Denn es zeigte sich sehr bald, daß aus der Behandlung der Placentasubstanz mit Alkohol und Aceton ein sehr fermentarmes Produkt resultiert. Aus der frischen Substanz bereitete ich nun einen Extrakt in der Weise, daß ich 1 Teil des Placentagewebes mit 2 Teilen physiologischer Kochsalzlösung in der Reibeschale fein zerrieb, 2 bis 3 Stunden bei Zimmertemperatur unter häufigem Umrühren stehen ließ und dann stark abzentrifugierte.

## A. Kohlenhydratspaltende Fermente.

### *1. Diastase.*

Über das Vorhandensein von Diastase in der Placenta besteht kein Zweifel. Sämtliche Autoren, die sich bisher mit dieser Frage beschäftigten, kamen übereinstimmend zu einem positiven Resultat.

So konnten *Cramer* und *Lochhead*[1]), *Charrin* und *Goupil*[2]), *Nathan-Larrier* und *Ficai*[3]), *Liepmann* und *Bergell*[4]), *Savaré*[5]), *Löb* und *Higuchi*[6]) mit Sicherheit eine diastasische Wirkung der Placenta feststellen. Über die Mengenverhältnisse finden wir allerdings in den meisten nur spärliche Angaben und über die Verhältnisse von Diastase im mütterlichen Blute zur Placenta finden sich überhaupt keine Untersuchungen. Und doch war es von Interesse festzustellen, ob die Diastase bei ihrem Übertritt von der Mutter auf das Kind nicht von der Placenta zurückgehalten würde. Als Methode zur quantitativen Bestimmung diente uns das Verfahren von *Wohlgemuth*[7]). Dementsprechend gingen wir so vor, daß wir den frisch bereiteten Extrakt — 1 Teil Substanz + 3 Teile physiologischer Kochsalzlösung — durch scharfes Zentrifugieren von den groben Gewebsteilen der Placenta trennten und in absteigender Menge auf eine Reihe von Reagenzgläsern verteilten. Zur Verteilung verwandten wir, um optimale Werte zu erhalten, 1 proz. Kochsalzlösung. Da nun zu erwarten war, daß die Ausschläge keine sehr großen sein würden, wurde der Versuch mit 1 prom. Stärkelösung angesetzt, und zwar so, daß zu jedem Gläschen 2,0 ccm kamen. Daraufhin wurde die Reihe in einen Brutschrank gestellt und nach Verlauf von 24 Stunden durch Zusatz von n/50 Jodlösung in geringem Überschuß ermittelt. Daneben wurde in dem Placentapulver die Diastase bestimmt, und zwar in der Weise, daß zunächst 1,0 g Pulver mit 20,0 ccm 1 proz. Kochsalzlösung in der Reibschale gründlich verrieben und nach

---

[1]) *Cramer* und *Lochhead*, Journ. of phys. 34, 1906.
[2]) *Charrin* und *Goupil*, C. r. soc. biol. 142, 1906.
[3]) *Nathan-Larrier* und *Ficai*, Biochem. Centralbl. 7, 1909.
[4]) *Liepmann* und *Bergell*, Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 46.
[5]) *Savaré*, Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. 9, 1907.
[6]) *Löb* und *Higuchi*, diese Zeitschr. 22, 343, 1909.
[7]) *Wohlgemuth*, ebendaselbst 9, 1908.

mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur zentrifugiert wurde. Mit dem so gewonnenen Extrakt wurde dann in der gleichen Weise die Diastase im Reihenversuch bestimmt. Aus der großen Zahl meiner Untersuchungen teile ich sowohl vom frischen Extrakt wie vom Pulver nur je vier mit.

*Tabelle I.*

| | Frischer Extrakt $d\,{}^{38^0}_{24\mathrm{h}}$ | Pulverextrakt $d\,{}^{38^0}_{24\mathrm{h}}$ |
|---|---|---|
| Versuch 1 . . . . . | 16 | 8 |
| „ 2 . . . . . | 16 | 8 |
| „ 3 . . . . . | 32 | 8 |
| „ 4 . . . . . | 16 | 4 |

Wir ersehen aus diesen Zahlen, daß die diastasische Kraft der Placentaextrakte nur schwach ist. Diese geringe Menge erklärt sich wohl zum Teil daraus, daß durch das starke Waschen der Placenta zwecks Entfernung des Blutes sicher ein Teil des Fermentbestandes verloren gegangen ist. In Wirklichkeit sind aber Diastasemengen nicht gar so klein, wenn man bedenkt, daß nicht die reine Placentasubstanz, sondern ein Placentabrei zur Herstellung des Extraktes verwandt wurde. Wenn man den starken Verdünnungsfaktor berücksichtigt und die Diastasemenge auf 100 g frische Placentasubstanz umrechnet, so bekommt man Werte, die schwanken zwischen $d\,{}^{38^0}_{24\mathrm{h}} = 6400$ und 12800. Berechnet man dagegen die diastasische Kraft für frische Placentasubstanz aus dem Werte, den das Pulverextrakt geliefert hat, so bekommt man weit kleinere Werte, die sich um $d\,{}^{38^0}_{24\mathrm{h}} = 320$ bewegen. Danach bedingt die Herstellung des Placentapulvers eine starke Beeinträchtigung des Fermentbestandes der Placenta. Um einen Anhaltspunkt über das Verhältnis der Diastasemengen in der Placenta zu den in anderen Organen zu bekommen, haben wir uns aus menschlicher Leber, nach Entfernung des Blutes durch gründliches Waschen, in genau der gleichen Weise einen Brei hergestellt und aus diesem Brei einen Extrakt bereitet. Diese Versuche wurden mehrfach wiederholt, und es ergaben sich für die einzelnen Extrakte Werte, die schwankten zwischen $d\,{}^{38^0}_{24\mathrm{h}} = 3$ bis 4. Hiernach enthält die Leber viel geringere Mengen an Diastase als die Placenta.

Dieser Befund, daß die Placenta vier- bis achtmal so viel Diastase enthält als die Leber, schien uns sehr auffällig, und wir bemühten uns, eine Erklärung hierfür zu finden. Zwei Momente konnten nur in Frage kommen: Entweder bildet die Placenta selbst die Diastase oder sie fängt Diastase aus dem mütterlichen Blute ab und speichert sie in ihrem Gewebe auf. Dies zu entscheiden, war nur möglich durch Untersuchung des mütterlichen Blutes und Nabelschnurblutes auf Diastase. Wenn letzteres zutraf, mußte das Nabelschnurblut weniger Diastase enthalten als das mütterliche Blut. Ich teile das Ergebnis von zwei Untersuchungen mit. Das Blut von der Mutter war durch Punktion der Vena cubitalis, das Nabelschnurblut unmittelbar nach Abbinden der Nabelschnur gewonnen. Von beiden Blutsorten wurde das Serum durch scharfes Zentrifugieren erlangt und dann in der üblichen Weise die Diastase bestimmt.

*Tabelle II.*

| | Mütterliches Blut $d_{24h}^{38^0}$ | Placentablut $d_{24h}^{38^0}$ |
|---|---|---|
| Versuch 1 . . . . . | 200 | 4 |
| „ 2 . . . . . | 400 | 64 |

Wir sehen hiernach deutlich, daß das mütterliche Blut unvergleichlich mehr Diastase enthält als das Nabelschnurblut. Somit hat das Resultat zugunsten der Annahme entschieden, daß die Placenta aus dem sie durchströmenden Blute einen Teil der Diastase zurückhält. — Das schließt nun aber keineswegs aus, daß die Placenta nicht auch selber etwas Diastase produziert; in welchem Umfange das jedoch geschieht, entzieht sich unserer Beurteilung.

## 2. *Lactase.*

Die Angabe über das Vorkommen dieses Ferments sind bisher widersprechend. *Liepmann* und *Bergell* fanden nach Einwirkung von Placentabrei auf verdünnte Milchzuckerlösung ein Osazon, das in heißem Wasser schwer löslich war, und schließen daraus auf die Gegenwart von Lactase in der Placenta. *Löb* und *Higuchi* kamen zu einem durchaus negativen Ergebnis. Wir prüften diese Fragen nach und gingen dabei so vor, daß wir 40,0 ccm eines blutfreien Placentabreies mit 20,0 ccm 1 proz. Milchzuckerlösung versetzten, dazu 2,0 ccm eines Phosphatgemisches ($Na_2HPO_4$ 110,0 + $KH_2PO_4$ 85,0 + 500 ccm $H_2O$) zugaben und nach Überschichten mit einer ausreichenden Menge Toluol in den Brutschrank stellen. Zuvor wurde noch ein Teil des Gemisches entnommen und nach *Bertrand*[1]) die Reduktion quantitativ bestimmt. Hierfür war es zunächst notwendig, sämtliches Eiweiß aus der Lösung zu entfernen. Wir erreichten das so, daß wir die dem Gemisch entnommene Portion zentrifugierten und 5 ccm des Zentrifugats zunächst mit 41,0 ccm Wasser, dann mit 3,0 ccm fünffach verdünntem kolloidalen Eisen und 1,0 ccm 0,5 proz. $MgSO_4$-Lösung versetzten. Von dem spiegelklaren Filtrat wurden regelmäßig 5 ccm für die Zuckerbestimmung verwandt. Nach 24 stündigem und nach 48 stündigem Stehen im Brutschrank wurden wiederum aliquote Teile dem Gemisch entnommen und in der gleichen Weise wie vorhin enteiweißt und nach *Bertrand* verarbeitet. Das Resultat dieser Untersuchungen geben wir in folgender Tabelle III wieder.

*Tabelle III.*

| | mg Cu in 5 ccm des Ferment-Milchzuckergemisches | | |
|---|---|---|---|
| | sofort | nach 24 Std. bei 38° | nach 48 Std. bei 38° |
| Versuch 1 . . . . . . . | 173,6 | 180,4 | 189,7 |
| „ 2 . . . . . . . | 169,6 | 195,4 | 172,8 |
| „ 3 . . . . . . . | 158,0 | 172,4 | 170,6 |
| „ 4 . . . . . . . | 165,5 | 182,5 | 165,9 |
| „ 5 . . . . . . . | 177,2 | 196,2 | 198,0 |
| „ 6 . . . . . . . | 173,1 | 181,6 | 175,5 |

[1]) *Bertrand*, Bull. de la Soc. chemique de Paris 1906.

Wir haben in dieser Tabelle das Ergebnis von nur sechs Versuchen mitgeteilt; die Zahl der von uns angestellten ist aber weit größer. Das Resultat war in allen übereinstimmend: Nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank deutliche Zunahme der reduzierenden Substanzen. Diese läßt sich nur so erklären, daß ein Teil des Milchzuckers in seine beiden Komponenten Galaktose und Glucose teilweise gespalten war. Nach weiterem Verweilen im Brutschrank sehen wir nur in zwei Fällen eine mäßige Zunahme an Cu, in den übrigen dagegen eine mehr oder weniger deutliche Abnahme. Wie diese zu erklären ist, kann man schwer sagen. Entweder handelt es sich um eine Zerstörung von reduzierenden Substanzen oder um einen rückläufigen synthetischen Prozeß. Auf jeden Fall geht aus unserem Versuche ohne Zweifel hervor, daß in der Placenta sich eine, wenn auch nur sehr schwach wirksame Lactase findet. Bei dem voraussichtlich noch geringeren Gehalt des Placentapulvers an Lactase verzichteten wir auf besondere Versuche mit demselben.

### 3. *Invertase.*

Invertase haben *Liepmann* und *Bergell* und ebenso *Savaré* in der Placenta nicht nachweisen können, während nach den Untersuchungen von *Löb* und *Higuchi* dieses Ferment sicher in der Placenta enthalten ist. Unsere Untersuchungen ergaben gleichfalls ein positives Resultat. Die Versuchsanordnung gestalteten wir so, daß wir 50,0 ccm von unserem frisch bereiteten Placentabrei versetzten, mit 2,0 g Rohrzucker, den wir in 150,0 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung gelöst hatten, und mit 2,0 ccm obigem Phosphatgemisch. Gleichzeitig wurde eine Kontrollprobe ohne Rohrzucker angesetzt, bestehend in 50,0 ccm Placentabrei, 150,0 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung und 2,0 ccm Phosphatgemisch. Darauf wurden beiden Proben sofort aliquote Teile für die Reduktionsbestimmung entnommen und der Rest mit ausgleichender Menge Toluol überschichtet in den Brutschrank gestellt. Die entnommene Probe wurde durch scharfes Zentrifugieren von den gröberen Placentastückchen befreit und von dem überstehenden Extrakt 10,0 ccm mit 5,0 ccm Wasser, 9,0 ccm fünffach verdünnter kolloidaler Eisenlösung und 1,0 ccm 0,5proz. Magnesiumsulfatlösung versetzt. Von dem spiegelklaren Filtrat wurden jedesmal 10,0 ccm für die Bestimmung der reduzierenden Substanzen nach *Bertrand* verwandt. Nach 24stündigem Verweilen wurde ein aliquoter Teil dem Zuckergemisch sowie der Kontrollprobe entnommen und in der gleichen Weise auf reduzierende Substanzen verarbeitet und ebenso nach 48 Stunden. Derartige Versuche stellten wir in großer Anzahl an; wir begnügen uns aber mit der Mitteilung von nur drei Versuchen in Tabelle IV.

*Tabelle IV.*

| | mg Cu in 109 ccm des Gemisches | | |
|---|---|---|---|
| | sofort | nach 24 Std. | nach 48 Std. |
| Versuch 1 . . . . . . . | 34,8 | 64,8 | 73,8 |
| „ 2 . . . . . . . | 35,8 | 66,8 | 54,4 |
| „ 3 . . . . . . . | 57,2 | 71,8 | 70,8 |

Aus sämtlichen Versuchen geht übereinstimmend hervor, daß beim Aufenthalt im Brutschrank die Menge der reduzierenden Substanzen zugenommen hat. Damit ist bewiesen, daß in der Placenta eine Invertase allerdings von nicht sehr starker Wirkung enthalten ist.

### 4. *Glykolyse.*

Während alle früheren Autoren das Vorkommen eines glykolytischen Ferments in der Placenta bestreiten, kamen *Liepmann* und *Bergell* zu einem positiven Ergebnis. Bei einer Nachprüfung dieser Untersuchungen aber konnten *Löb* und *Higuchi* keinen glykolytischen Effekt in der Placenta beobachten. Wir prüften deshalb diese Frage noch einmal nach und gingen dabei so vor, daß wir 50,0 ccm blutfreien Placentabrei versetzten mit 2,0 g Traubenzucker, gelöst in 150,0 ccm 0,9proz. Kochsalzlösung, dazu 2,0 ccm Phosphatgemisch und 3,0 ccm Toluol. Danach entnahmen wir sofort einen aliquoten Teil, zentrifugierten und verwandten 25,0 ccm des Zentrifugats zum Enteiweißen, indem wir mit 13,0 ccm Wasser verdünnten und dann zwecks Ausfällung des in Lösung gegangenen Eiweißes mit 10,0 ccm fünffach verdünnter kolloidaler Eisenlösung und 2,0 ccm 0,5proz. Magnesiumsulfatlösung versetzten und in 5,0 ccm des wasserklaren Filtrats den Zucker bestimmten. Dann kam das Gemisch in den Brutschrank, und nach Verlauf von 1, 2 und 3 Tagen wurde in gleicher Weise die Zuckermenge bestimmt. Wir teilen das Resultat von drei Versuchen in Tabelle V mit.

*Tabelle V.*

| | mg Cu in 5,0 ccm Filtrat | | | |
|---|---|---|---|---|
| | sofort | nach 24 Std. | nach 48 Std. | nach 72 Std. |
| Versuch 1 . . . . . | 42,27 | 43,50 | 44,56 | 45,29 |
| „ 2 . . . . . | 45,39 | — | 45,77 | 49,55 |
| „ 3 . . . . . | 47,25 | 47,50 | 48,76 | 51,55 |

In sämtlichen Versuchen sehen wir niemals eine Abnahme, sondern im Gegenteil eine, wenn auch geringe Zunahme einer reduzierenden Substanz. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist diese zurückzuführen auf Spuren von Zucker, die wohl aus den in der Placenta noch vorhandenen Glykogenresten herrühren. Somit hat sich in unseren Versuchen der Nachweis eines glykolytischen Ferments in der Placenta nicht erbringen lassen.

### 5. *Carboxylase.*

Dieses von *Neuberg*[1]) in der Hefe entdeckte Ferment, das die Eigenschaft besitzt, Brenztraubensäure in Acetaldehyd und Kohlendioxyd zu zerlegen, ist auch in tierischen Organen gefunden worden. So konnte *Tschernorutzky*[2]) in Leber und Muskel von Hund und Kaninchen Carboxylase mit Sicherheit nachweisen, indem er feststellte, daß zum Organbrei zugesetzte Brenztraubensäure nach mehrtägiger Digestion im Brutschrank an Menge abnahm. Vor kurzem konnten *Neuberg* und *Gottschalk*[3]) auch noch mit Hilfe der „*Abfangmethode*“ den Nachweis erbringen, daß bei der Einwirkung von Leber und Muskel auf Brenztraubensäure Acetaldehyd gebildet wird. Ich habe nun versucht, auch bei der Placenta dieses Ferment nachzuweisen und bin dabei in der gleichen Weise vor-

---

[1]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **31**, 174, 1911.
[2]) *Tschernorutzky*, ebendaselbst **48**, 486, 1912.
[3]) *Neuberg* und *Gottschalk*, Klin. Wochenschr. 1923, Nr. 31, S. 1458.

gegangen wie *Tschernorutzky*. 20 g blutfreies Placentagewebe wurden mit 100,0 ccm einer 1proz. Brenztraubensäurelösung gemischt, mit Toluol versetzt und gut durchgeschüttelt. Von dieser Mischung wurde sofort ein aliquoter Teil entnommen. während der Rest in den Brutschrank gestellt wurde, zentrifugiert und 30,0 ccm des Zentrifugats mit kolloidalem Eisen und Magnesiumsulfat enteiweißt. Von dem klaren Filtrat wurde ein bestimmter Teil zur Verarbeitung auf Osazon verwandt. Die Darstellung des Osazons geschah nach der Vorschrift von *Neuberg* und *Karczag*[1]) in der Weise, daß die eiweißfreie Lösung mit der erforderlichen Menge von vorher gereinigtem p-Nitrophenylhydrazin versetzt wurde, das wir uns in essigsaurem Alkohol gelöst hatten. Danach wurde bis zum nächsten Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen und dann das gebildete Osazon abfiltriert, gewaschen, getrocknet und gewogen. Wenn ein Abbau der Brenztraubensäure stattgefunden hatte, mußte im Laufe der Zeit die Menge des Osazons abnehmen. In der Tat zeigte sich in unseren Versuchen nach mehrtägiger Digestion stets eine deutliche Abnahme der Osazonmenge. Als Beleg fügen wir zwei Versuche an, und zwar einen Versuch mit einer 1proz. Brenztraubensäurelösung, an deren Reaktion nichts geändert wurde, und einen Versuch mit 1proz. Brenztraubensäurelösung, die wir durch Zusatz von Natriumcarbonat bis zur ganz schwach sauren Reaktion abgestumpft hatten. Die mitgeteilten Zahlen sind berechnet aus den durch Wägung gefundenen Osazonmengen unter Zugrundelegung der Molekulargewichte, wonach 88 g Brenztraubensäure 223 g Brenztraubensäure-p-nitrophenylhydrazon entsprechen, und beziehen sich auf die Gesamtmenge des Gemisches.

*Tabelle VI.*

| | | Sofort | Nach 5 Tagen | Nach 8 Tagen |
|---|---|---|---|---|
| Versuch 1<br>20 g Placenta | Gehalt an Brenztraubensäure | 0,9735 g | 0,7761 g | — |
| | Differenz | 0,0 g | 0,1974 g | — |
| | Abnahme in Proz. | 0,0 | 20 | — |
| Versuch 2<br>20 g Placenta | Gehalt an Brenztraubensäure | 0,9869 g | 0,7106 g | 0,5756 g |
| | Differenz | — | 0,2763 g | 0,1350 g |
| | Abnahme in Proz. | — | 28 | 19 |

Aus diesen beiden Versuchen geht deutlich hervor, daß das Placentagewebe eine Zersetzung der Brenztraubensäure bewirkt, daß also in ihm eine Carboxylase enthalten ist. Wenn auch die Ausschläge hinter denen von *Tschernorutzky* für die Leber und den Muskel angegebenen etwas zurückbleiben, so ist das wohl darauf zurückzuführen, daß in der Placenta weniger Carboxylase sich findet als in den anderen Organen.

### B. Eiweißspaltende Fermente.

Über das Vorkommen von eiweißspaltenden Fermenten in der Placenta besteht kein Zweifel. Schon *Mathes*[2]) beobachtete bei der Autolyse der Placenta eine tiefgehende Spaltung des eigenen Eiweißes bis zu den Amino-

[1]) *Neuberg* und *Karczag*, diese Zeitschr. 36, 62. 1911.

[2]) *Mathes*, Centralbl. f. Gynäkol. 1901.

säuren. Die späteren Forscher bemühten sich dann, den Charakter des eiweißspaltenden Ferments festzustellen, kamen aber zu keinen übereinstimmenden Resultaten. Während *Bergell* und *Liepmann* und *Savaré* eine erepsinähnliche Protease in der Placenta vermuteten, wird deren Gegenwart von *Cramer* und *Lochhead*, *Löb* und *Higuchi* bestritten. Dagegen findet sich nach den Angaben von *Ascori*[1]), *Löb* und *Higuchi* eine Protease, die in saurer Lösung peptische Eigenschaft besitzt. Wir beschäftigten uns zunächst mit der Frage von dem Vorkommen von Erepsin in der Placenta. *Löb* und *Higuchi* waren bei ihren Versuchen so vorgegangen, daß sie aus Placentabrei das Erepsin zu isolieren suchten, kamen aber zu einem negativen Ergebnis. Uns scheint der von ihnen eingeschlagene Weg der Fermentisolierung nicht zweckmäßig. Denn dabei ist stets Voraussetzung, daß das Ferment sich in dem betreffenden Organ in nicht geringerer Konzentration findet. Bei Anwesenheit von verhältnismäßig nur geringen Fermentmengen konnte ein solcher Versuch durchaus mißglücken, ohne daß man daraus den Schluß ziehen durfte, daß das Ferment in der Placenta fehlt. Wir haben deshalb auf eine Isolierung des Ferments verzichtet und unsere Versuche direkt mit Placentabrei angestellt. Im einzelnen verfuhren wir so, daß wir 20,0 ccm Placentabrei, den wir aus blutfrei gewaschener Placenta hergestellt hatten, indem wir 35 g gut zerkleinerte Placentasubstanz und 65,0 ccm Wasser durchmischten, mit 10,0 ccm einer 1proz. Peptonlösung (*Witte*) versetzten unter Zugabe von ausreichender Menge Toluol. Als Kontrolle diente die gleiche Menge Brei mit 10,0 ccm Wasser und Toluol. Beiden Proben wurden aliquote Teile entnommen, scharf zentrifugiert und mit 10,0 ccm des Zentrifugats die Formoltitration nach *Sörensen* vorgenommen. Ebenso wurde nach 24 und nach 48 Stunden der Fortgang der Hydrolyse in beiden Portionen kontrolliert. Derartige Versuche stellten wir in großer Zahl an und kamen stets zu gut übereinstimmenden Resultaten. Wir begnügen uns indes mit der Mitteilung von nur fünf Versuchen. In der Tabelle VII haben wir die verbrauchten Kubikzentimeter n/5 Barytlauge auf Stickstoff umgerechnet.

*Tabelle VII.*

| | mg N in 100,0 ccm | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Hauptprobe | | | Kontrolle | | |
| | sofort | 24 Std. | 48 Std. | sofort | 24 Std. | 48 Std. |
| Versuch 1 . . | 2,80 | 5,60 | 6,72 | 2,10 | 3,64 | 4,14 |
| „ 2 . . | 2,52 | 5,88 | 6,16 | 1,96 | 3,64 | 4,76 |
| „ 3 . . | 3,92 | 5,32 | 6,72 | 2,14 | 3,64 | 3,64 |
| „ 4 . . | 3,08 | 5,88 | 6,44 | 2,80 | 3,08 | 4,10 |
| „ 5 . . | 2,42 | 6,56 | 6,72 | 2,52 | 3,64 | 3,92 |

Wir sehen in allen Fällen eine deutliche Zunahme des formoltitrierbaren Stickstoffs, die um so größer wird, je länger die Digestion vor sich geht, da dieser Zuwachs an Stickstoff nur aus dem zugesetzten Pepton herrühren kann, so ist man berechtigt, hieraus auf die Anwesenheit von Erepsin in der Placenta zu schließen.

[1]) *Ascori*, Centralbl. f. Physiol. **16**, 124, 1903.

Hiernach untersuchten wir die Placenta auf die Gegenwart eines pepsinähnlichen Ferments, wie es *Löb* und *Higuchi* in der Placenta annehmen. Sie schließen auf die Anwesenheit eines peptisch wirksamen Ferments daraus, daß das anfänglich neutral reagierende Gemisch nach Beendigung der Digestion sauer reagierte. Diese Beobachtung scheint uns aber noch kein hinreichender Grund für die Annahme von Pepsin zu sein. Denn einmal wissen wir, daß auch die Autolyse bei saurer Reaktion vor sich gehen kann. Außerdem konnte man sich vorstellen, daß, solange noch das Gemisch neutral war, die Hauptspaltung sich vollzog, und daß bei Eintritt der sauren Reaktion die weitere Hydrolyse sistierte. Die Frage, ob Pepsin in der Placenta vorhanden ist oder nicht, war unseres Erachtens nur so zu entscheiden, daß man den Versuch direkt in salzsaurer Reaktion anstellte. Wir gingen deshalb so vor, daß wir denselben Placentabrei einer blutfrei gewaschenen Placenta verwandten und 20,0 ccm mischten mit 20,0 ccm einer 2proz. neutralen Caseinlösung, dazu fügten wir 5,0 ccm n/10 HCl und eine ausreichende Menge Toluol. Als Kontrolle diente eine Mischung, bestehend aus der gleichen Menge Placentabrei, 20,0 ccm Wasser, 5,0 ccm n/10 HCl und Toluol. Beide Mischungen kamen in den Brutschrank auf 24 Stunden, und nach Ablauf der Frist wurde aus ihnen eine Probe entnommen, scharf zentrifugiert und 10,0 ccm dieses Zentrifugats mit kolloidaler Eisenlösung und 0,5proz. Magnesiumsulfatlösung enteiweißt. In 5,0 ccm des wasserklaren Filtrats wurde dann der Gesamt-N nach *Kjeldahl* bestimmt. Von den zahlreich angestellten Versuchen teile ich nur fünf mit. Die in Tabelle VIII eingetragenen Werte beziehen sich auf je 10,0 ccm der Mischungen.

*Tabelle VIII.*

| | In 10,0 ccm Lösung | |
|---|---|---|
| | Hauptprobe ccm n/10 $H_2SO_4$ | Kontrolle ccm n/10 $H_2SO_4$ |
| Versuch 1 . . . . . | 1,80 | 1,20 |
| „ 2 . . . . . | 1,20 | 0,60 |
| „ 3 . . . . . | 1,50 | 0,90 |
| „ 4 . . . . . | 1,50 | 0,78 |
| „ 5 . . . . . | 1,92 | 1,50 |

Wir sehen in allen Fällen nur eine äußerst schwache proteolytische Wirkung, die mit der weit größeren von *Löb* und *Higuchi* kaum verglichen werden kann und die mit den Angaben von *Ascori* in direktem Widerspruch steht. Wir möchten nach diesen unseren Erfahrungen annehmen, daß, wenn überhaupt in der Placenta ein pepsinähnliches Ferment vorhanden ist, dieses dann nur äußerst schwach sein kann.

Von dem Gedanken ausgehend, daß, wo Pepsin vorhanden ist, sich meist auch Lab findet — auf die noch immer strittige Frage von der Identität zwischen Pepsin und Lab möchten wir hier nicht näher eingehen —, haben wir in allen unseren Versuchen gleichzeitig auch auf Lab untersucht, aber in keinem einzigen Falle ein positives Resultat bekommen. Auch dieses Moment bestärkt uns in der Annahme, daß in der Placenta ein pepsinähnliches Ferment kaum vorhanden ist.

Nicht viel anders fielen die Resultate aus, wenn wir den Placentabrei in schwach alkalischer Reaktion auf Casein wirken ließen. Die Versuche wurden in der nämlichen Weise angestellt, nur daß hier eine schwach alkalisch reagierende Caseinlösung verwendet wurde. Die Mischung setzte sich jedesmal zusammen aus 20,0 ccm Placentabrei, 20,0 ccm 1 proz. Caseinlösung, gelöst in 2 prom. Natriumcarbonatlösung, und Toluol, die Kontrolle entsprechend aus 20,0 ccm Placentabrei + 20,0 ccm 2 prom. Natriumcarbonatlösung + Toluol. Nach 24stündigem Stehen im Brutschrank wurde ein Teil des Gemisches zentrifugiert und 10,0 ccm in der üblichen Weise mit kolloidaler Eisenlösung enteiweißt und im Filtrat der Stickstoff bestimmt. Wir teilen das Resultat von fünf Versuchen in Tabelle IX mit.

*Tabelle IX.*

| | Hauptprobe ccm n/10 $H_2SO_4$ | Kontrolle ccm n/10 $H_2SO_4$ |
|---|---|---|
| Versuch 1 . . . . . | 1,50 | 0,60 |
| „ 2 . . . . . | 1,80 | 0,90 |
| „ 3 . . . . . | 1,80 | 0,90 |
| „ 4 . . . . . | 1,20 | 0,60 |
| „ 5 . . . . . | 1,50 | 0,60 |

Die Versuche lassen eine ziemlich deutliche Spaltung des Caseins erkennen, und da dieselbe in schwach alkalischer Reaktion vor sich gegangen ist, muß man, wie das ja auch alle anderen Autoren bestätigen, auf die Gegenwart eines trypsinähnlichen Ferments schließen.

Außerdem hatten wir auch Versuche mit bluthaltiger Placenta angestellt, sowohl in saurer wie in neutraler, wie in alkalischer Reaktion, aber alle diese Versuche ergaben weit schlechtere Resultate als mit blutfreier Placenta.

*Desamidase.*

Im Anschluß an unsere Untersuchungen über das Vorkommen von eiweißspaltenden Fermenten prüften wir auch den Placentabrei auf die Gegenwart von Desamidase. Nach den Angaben von *Savaré* findet sich in der Placenta ein Ferment, das imstande ist, die $NH_2$-Gruppe verschiedener Amide, Amine und Aminosäuren in Ammoniak überzuführen. Dieses Ferment hat als erster *Lang*[1]) in verschiedenen tierischen Geweben nachweisen können und es Desamidase genannt. Obwohl aus *Savarés* Versuchen hervorgeht, daß der Gehalt der Placenta an Desamidase ein recht beträchtlicher ist, konnten *Löb* und *Higuchi* zu keinem positiven Resultat kommen, wenngleich sie wie *Savaré* auch Glykokoll für ihre Versuche verwandten. Wir haben deshalb unsere Untersuchungen auch auf dieses Ferment ausgedehnt und gingen dabei so vor, daß wir 50,0 ccm unseres blutfreien Placentabreies versetzten mit 0,5 g Glykokoll, gelöst in 20,0 ccm Wasser, und etwas Toluol. In einem Parallelversuche mischten wir 50,0 ccm Brei mit 0,5 g Asparagin, gelöst in 20,0 ccm Wasser und etwas Toluol. Als Kontrolle für beide Versuche diente die gleiche Menge Placentabrei mit 20,0 ccm Wasser allein und mit Toluol. Sämtliche drei Portionen kamen auf längere Zeit in den Brutschrank und wurden in größeren Zwischen-

[1]) *Lang*, Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. 5, 323.

räumen auf ihren Gehalt an freiem Ammoniak untersucht. Die Ammoniakbestimmungen nahmen wir so vor, daß wir einen aliquoten Teil des Gemisches zentrifugierten und 5,0 ccm des Zentrifugats mit 9,0 ccm Wasser, 5,0 ccm fünffach verdünntem kolloidalem Eisen und 1,0 ccm 0,5proz. Magnesiumsulfat versetzten. Von dem wasserklaren Filtrat verwandten wir 10,0 ccm und führten die $NH_3$-Bestimmung im Mikrokjeldahlapparat unter Dampfdurchleitung in der üblichen Weise aus. Es wurden, wie auch oben bei unseren Stickstoffbestimmungen, stets Doppelanalysen ausgeführt. Von unseren zahlreich angestellten Versuchen führen wir nur drei in Tabelle X an.

*Tabelle X.*

| | | mg N in 100,0 ccm Mischung | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | nach 7 Tagen | nach 15 Tagen | nach 18 Tagen | nach 28 Tagen |
| Versuch 1 | Glykokoll . | 2,856 | 4,704 | 8,344 | 10,828 |
| | Asparagin . | 9,352 | 12,880 | 15,960 | 16,184 |
| | Kontrolle . | 5,264 | 6,832 | 8,120 | 7,728 |
| | | nach 7 Tagen | nach 15 Tagen | nach 19 Tagen | nach 28 Tagen |
| „ 2 | Glykokoll . | 5,488 | 6,104 | 6,160 | 4,032 |
| | Asparagin . | 9,744 | 11,032 | 13,720 | 14,392 |
| | Kontrolle . | 4,032 | 4,368 | 9,744 | 6,496 |
| | | nach 8 Tagen | nach 11 Tagen | nach 19 Tagen | nach 28 Tagen |
| „ 3 | Glykokoll . | 1,792 | — | 4,096 | 2,980 |
| | Asparagin . | 7,896 | 9,520 | 11,592 | 12,040 |
| | Kontrolle . | 4,536 | 5,040 | 4,256 | 5,656 |

Aus sämtlichen drei Versuchen geht deutlich hervor, daß eine Spaltung des Asparagins stattgefunden hat. Allerdings sind die Werte, die wir festgestellt haben, lange nicht so groß wie die von *Savaré* angegebenen. Die Spaltung des Glykokolls ist nur im ersten Versuche einigermaßen erkennbar; aber da sie in den anderen Versuchen kaum festzustellen oder gar vollkommen ausgeblieben ist, möchten wir annehmen, daß die Wirkung der Placenta auf Glykokoll nur eine äußerst schwache ist.

### C. Fettspaltende Fermente.

Auch auf fettspaltende Fermente hat man frühzeitig in der Placenta gefahndet und ist dabei zu wechselnden Resultaten gekommen. So behaupten *Nathan-Larier* und *Ficai* und ebenso *Savaré*, daß Lipase in der Placenta enthalten ist, während *Raineri*, *Bergell* und *Liepmann*, *Löb* und *Higuchi* ihre Gegenwart bestreiten.

Wir verwendeten, um einer Täuschung durch Serumlipase vorzubeugen, für unsere Versuche nur Placentagewebe, das wir durch gründliches Waschen vom Blute soweit wie irgend möglich befreit hatten. Dieses Auswaschen hat natürlich den großen Nachteil, daß damit auch ein bedeutender Anteil am Fermentbestand verloren geht. Um so mehr beweist dann aber ein positives Resultat die Gegenwart des gesuchten Ferments. Von dem vollkommen zerkleinerten blutfreien Placentagewebe stellten wir uns mit Wasser einen Brei her, indem wir 35,0 g Substanz mit 65,0 ccm Wasser gründlich verrieben. Von diesem Brei zentrifugierten wir ab und versetzten 3,0 ccm mit 10,0 ccm einer 1proz. Monobutyrinlösung und etwas Toluol und stellten das Gemisch auf 24 Stunden in den Brutschrank. Als

Kontrolle diente die gleiche Menge Extrakt mit 10,0 ccm Wasser und Toluol. Nach 24 Stunden wurde durch Titration mit n/20 NaOH gegen Phenolphthalein als Indikator die Menge der in Freiheit gesetzten Buttersäure bestimmt.

In Tabelle XI teilen wir einen Teil unserer Resultate mit, indem wir die Zahlen für je 10,0 ccm Extrakt angeben, unter Abzug der Menge für Kontrollproben, die niemals 0,2 ccm n/20 NaOH überstiegen.

*Tabelle XI.*

| | Verbrauchte ccm n/20 NaOH |
|---|---|
| Versuch 1 . . . . . . . | 16,8 |
| „ 2 . . . . . . . | 15,0 |
| „ 3 . . . . . . . | 12,3 |
| „ 4 . . . . . . . | 14,7 |
| „ 5 . . . . . . . | 15,3 |

Wir sehen aus diesen Versuchen, daß in der Placenta eine Monobutyrase enthalten ist, deren Wirkung nicht unbeträchtlich ist. Die widerstreitenden Resultate mögen wohl in der Hauptsache zurückzuführen sein auf die zum Teil unzweckmäßige Versuchsanordnung. Wir beobachteten z. B., daß Placentabrei lange nicht so wirkungsvoll war wie der von uns verwandte Extrakt. Dann haben frühere Autoren als Fettmaterial Eigelbemulsion oder Milch oder flüssiges Butterfett benutzt. Offenbar sind diese Fettarten für Placentaextrakte sehr schwer angreifbar. Das fein verteilte Monobutyrin dürfte ein viel geeigneteres Material bilden und ebenso das fein verteilte Tributyrin.

Mit diesem haben wir gleichfalls Versuche angestellt und sind dabei zu interessanten Ergebnissen gekommen. Als Methode verwandten wir die Tropfenmethode von *Rona* und *Michaelis*. Den Placentaextrakt bereiteten wir uns in der gleichen Weise wie vorhin beschrieben und benutzten für den Versuch stets 3,0 ccm. Dazu setzten wir 20,0 ccm nach Vorschrift hergestellter Tributyrinlösung, 1,0 ccm Phosphatgemisch (1 Teil n/3 primäres + 7 Teile n/3 sekundäres Phosphat), zählten die Tropfen sofort und nach kurzem Aufenthalt im Wasserbade bei 38° in bestimmten Intervallen. Auf diese Weise konnten wir in jedem von uns untersuchten Falle eine starke Spaltung des Tributyrins feststellen. Aus der großen Zahl von Versuchen teile ich nur fünf mit.

*Tabelle XII.*

| | Tropfenzahl | | | |
|---|---|---|---|---|
| | sofort | nach 30 Min. | nach 60 Min. | nach 90 Min. |
| Versuch 1 . . . . . | 174 | 133 | 125 | 125 |
| „ 2 . . . . . | 173 | 143 | 142 | 142 |
| „ 3 . . . . . | 173 | 135 | 125 | 125 |
| „ 4 . . . . . | 167 | 146 | 131 | 130 |
| „ 5 . . . . . | 172 | 142 | 126 | 126 |

Wir sehen hier also in allen Versuchen eine ausgiebige Spaltung des Tributyrins. Dieselbe ist nicht schwächer, als man sie bei dem schon recht wirksamen Serum beobachtet. Hier machten wir die Beobachtung, daß

die Placentalipase auch die Fähigkeit besitzt, schon bei einer Temperatur von 0° eine nicht unbeträchtliche Wirkung zu entfalten. Sie steht natürlich hinter der bei 38° zurück. Wenn man aber das Placentaextrakt 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt und dann die Wirkung des Extraktes bei 0° prüft, bekommt man nur sehr kleine Effekte, während die Digestion des aufbewahrten Extraktes bei 38° noch fast in demselben Umfange wie am Tage vorher vor sich geht. Es war nun von Interesse festzustellen, welche Stellung die Placentalipase zur Lipase des mütterlichen und kindlichen Serums einnimmt. Aus den interessanten Untersuchungen von *Rona* und seinen Mitarbeitern geht hervor, daß die Serumlipase sowohl gegen Chinin wie gegen Atoxyl empfindlich ist, d. h., daß sie in Gegenwart von Chinin und Atoxyl unwirksam wird. Wir untersuchten nun, wie die Placentalipase sich gegenüber Chinin und Atoxyl verhält. Die Versuchsanordnung wählten wir so, daß wir zu dem Gemisch 3,0 ccm Placentaextrakt + 20,0 ccm Tributyrin + 1,0 ccm Phosphatgemisch steigende Dosen von Chinin und Atoxyl zusetzten und dann die Wirkung der Lipase unter dem Einfluß derselben kontrollierten. Gleichzeitig wurde stets zur Kontrolle ein Versuch ohne Zusatz von Chinin bzw. Atoxyl ausgeführt. Das Resultat derartiger Versuche geben wir in Tabelle XIII wieder.

*Tabelle XIII.*

| | | Sofort | Nach 30 Min. | Nach 60 Min. | Nach 90 Min. |
|---|---|---|---|---|---|
| Versuch 1 | Kontrolle . . . . | 168 | 133 | 131 | 131 |
| | + 5 mg Chinin . | 176 | 131 | 131 | 130 |
| | + 10 mg „ . | 178 | 130 | 130 | 130 |
| „ 2 | Kontrolle . . . . | 168 | 155 | 140 | 140 |
| | + 5 mg Chinin . | 176 | 156 | 141 | 140 |
| | + 10 mg „ . | 179 | 154 | 144 | 142 |
| „ 3 | Kontrolle . . . . | 176 | 152 | 136 | 133 |
| | + 5 mg Chinin . | 178 | 152 | 135 | 133 |
| | + 10 mg „ . | 179 | 153 | 136 | 133 |
| „ 4 | Kontrolle . . . . | 160 | 145 | 142 | 142 |
| | + 5 mg Atoxyl . | 164 | 145 | 142 | 142 |
| | + 10 mg „ . | 162 | 146 | 142 | 142 |
| „ 5 | Kontrolle . . . . | 177 | 152 | 134 | 133 |
| | + 5 mg Atoxyl . | 177 | 152 | 136 | 130 |
| | + 10 mg „ . | 178 | 151 | 135 | 132 |

Aus sämtlichen Versuchen geht deutlich hervor, daß die Tributyrinspaltung der Placenta weder von Chinin noch von Atoxyl auch nur im geringsten in ihrer Wirkung gehemmt wird. Damit ist bewiesen, daß die Tributyrase der Placenta wesentlich verschieden ist von der des mütterlichen Blutes.

Es fragte sich nun, ob wir es in der Placenta mit einer Tributyrase zu tun haben, die nichts anderes ist als eine veränderte Serumlipase, oder ob sie als ein eigenes Produkt der Placenta zu betrachten ist. A priori konnte man daran denken, daß die Placenta einen Teil der im mütterlichen Blute enthaltenen Lipase zurückhält und in ihren Zellen aufspeichert und dabei dieser Lipase die Empfindlichkeit gegen Chinin und Atoxyl raubt. Wenn das der Fall war, mußte das durch die Placenta strömende mütterliche

Blut bei seinem Austritt aus der Placenta erstens weniger Lipase enthalten als das mütterliche, und zweitens mußte diese Lipase wenigstens einen Teil seiner Chinin- und Atoxylempfindlichkeit eingebüßt haben. Wir prüften daraufhin das Blut der Mutter und das zugehörige Nabelschnurblut, indem wir zum Versuche das aus beiden Blutsorten gewonnene Serum verwandten. Als Beleg führen wir aus unseren Protokollen nur je einen Versuch mit Chinin und mit Atoxyl in Tabelle XIV an.

*Tabelle XIV.*

| | | Sofort | Nach 30 Min. | Nach 60 Min. | Nach 90 Min. |
|---|---|---|---|---|---|
| Versuch 1 | Mütterliches Blut | | | | |
| | Kontrolle . . . . | 172 | 140 | 132 | 131 |
| | + 5 mg Chinin . | 173 | 171 | 168 | 168 |
| | + 5 mg Atoxyl . | 173 | 169 | 165 | 165 |
| | Placentablut | | | | |
| | Kontrolle . . . . | 171 | 136 | 131 | 131 |
| | + 5 mg Chinin . | 175 | 174 | 169 | 167 |
| | + 5 mg Atoxyl . | 171 | 170 | 167 | 166 |
| „ 2 | Mütterliches Blut | | | | |
| | Kontrolle . . . . | 171 | 138 | 131 | 131 |
| | + 5 mg Chinin . | 173 | 171 | 166 | 166 |
| | + 5 mg Atoxyl . | 172 | 168 | 164 | 164 |
| | Placentablut | | | | |
| | Kontrolle . . . . | 170 | 138 | 135 | 133 |
| | + 5 mg Chinin . | 173 | 170 | 165 | 165 |
| | + 5 mg Atoxyl . | 170 | 169 | 167 | 164 |

Aus beiden Versuchen ist ohne weiteres ersichtlich, daß das mütterliche Blut nach seinem Durchtritt durch die Placenta an Lipase nichts einbüßt und auch von seiner Empfindlichkeit gegenüber Chinin und Atoxyl nicht eine Spur verloren hat. Die hemmende Wirkung in beiden Fällen ist beim Placentablut um nichts geringer als beim mütterlichen Blute. Danach müssen wir annehmen, daß die Lipase der Placenta in gar keinem Abhängigkeitsverhältnis von der Lipase des mütterlichen Blutes steht, sondern seine Entstehung ausschließlich dem Placentagewebe verdankt.

Allerdings könnte man noch die Möglichkeit in Erwägung ziehen, daß, solange die Lipase des mütterlichen Blutes aus dem Gefäßsystem in der Placenta nicht in die Zelle selbst übertritt, auch an ihrer Chinin- und Atoxylempfindlichkeit sich nichts ändert, daß aber, sobald die Lipase in die Gewebszellen der Placenta eindringt, dann ihr Charakter sich vollkommen umgestaltet. Diese Erklärung hätte aber etwas Gezwungenes, denn es wäre nicht zu verstehen, warum das mütterliche Blut bei seinem Übertritt in die Placenta und bei seiner innigen Durchspülung des Placentagewebes nicht wenigstens einen kleinen Teil seiner Chinin- und Atoxylempfindlichkeit verlieren sollte. Dafür haben unsere Untersuchungen aber nicht den geringsten Anhaltspunkt ergeben, und wir möchten deshalb glauben, daß die Lipase der Placenta ein eigenes Produkt ihrer Zelltätigkeit ist. *Damit wäre zum erstenmal gezeigt, daß die Placenta nicht bloß Fermente in sich aufspeichern, sondern auch selber Fermente produzieren kann.*

In dem bisher bekannten System der tierischen Lipasen nimmt die Lipase der Placenta eine besondere Stellung ein. Bekanntlich hat man unter den tierischen Lipasen bisher drei Typen unterschieden: 1. chinin-

empfindliche Lipasen (Pankreas, Darm), 2. atoxylempfindliche Lipasen (Leber), 3. chinin- und atoxylempfindliche Lipasen (Serum). In keine dieser Gruppen paßt die Placentalipase hinein. Sie bildet vielmehr mit ihrer Unempfindlichkeit gegen Chinin und Atoxyl eine besondere Gruppe für sich.

Im Anschluß an unsere positiven Lipasebefunde in der Placenta haben wir bei dem nahen Zusammenhang zwischen Lipase und Hämolyse unsere Placentaextrakte auch auf hämolytische Wirkung untersucht. Wir benutzten hierzu die in der gewohnten Weise hergestellten Extrakte und brachten sie in absteigender Menge mit einer 5proz. Hammelblutaufschwemmung zusammen. Wir konnten in allen Fällen nur eine schwache Hämolyse feststellen.

## D. Histozym, Salicylase, Oxydase.

### *Histozym.*

Dieses von *Schmiedeberg* entdeckte Ferment hat die Eigenschaft, Hippursäure in Glykokoll und Benzoesäure zu zerlegen. Es ist in Nieren, Leber, Muskeln fast aller daraufhin untersuchter Tiere gefunden worden, und es war deshalb von Interesse festzustellen, ob es sich auch in der menschlichen Placenta findet. Hier arbeiteten wir aber nicht mit Placentabrei, sondern verwendeten das pulverisierte Organ für unsere Versuche, über dessen Herstellung wir oben berichtet haben.

Die Versuche wurden in der Weise durchgeführt, daß wir 0,4 g hippursaures Natrium in 20,0 ccm Wasser lösten. Dazu gaben wir 1,0 g Pulver und sorgten durch kräftiges Schütteln für eine gute Verteilung derselben. Dann wurden 2 bis 3 ccm Toluol zugesetzt und die Mischung auf 4 Tage in den Brutschrank (38° C) gestellt. Nach Ablauf der Frist wurde die Mischung kurz aufgekocht, abgekühlt und mit kolloidalem Eisen enteiweißt. Das vollkommen wasserklare Filtrat wurde mit verdünnter Salzsäure ganz schwach angesäuert und im Scheidetrichter viermal mit Petroläther (Siedepunkt 60° C) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden filtriert und aus dem Filtrat der Petroläther durch Luftdurchleitung verjagt. Dabei hatten sich am Boden des Gefäßes kleine, mit bloßem Auge sichtbare weiße Nädelchen abgeschieden, die unter dem Mikroskop deutlich als Benzoekristalle zu erkennen waren. Die Schmelzpunktbestimmung ergab gleichfalls die Identität mit Benzoesäure (120 bis 121° C).

Diese Versuche stellten wir mit Pulver von vier verschiedenen Placenta an und hatten in allen Fällen ein deutlich positives Resultat. *Somit ist auch in der Placenta Histozym enthalten.*

### *Salicylase.*

Schon *Savaré* hat sich bemüht, die Salicylase in der Placenta nachzuweisen, konnte aber nur ganz minimale Wirkungen konstatieren. Das lag vielleicht daran, daß er nicht direkt mit Placentaextrakten arbeitete, sondern daß er sich zunächst bemühte, aus der Placenta das Ferment zu isolieren. Da damit stets ein bedeutender Fermentverlust verbunden ist, stellten wir unsere Versuche mit dem nativen Placentabrei an. Wir gingen nach der Vorschrift von *Salkowski*[1]) so vor, daß wir 60,0 ccm unseres Placentabreies mit 1,0 g Salicylaldehyd stark schüttelten und unter Zugabe

---

[1]) *E. Salkowski*, Virchows Arch. **147**, 1, 1898.

von Toluol während 48 Stunden bei Zimmertemperatur hielten. Danach wurde das ganze Gemisch mit Schwefelsäure schwach angesäuert, aufgekocht und filtriert, und das Filtrat auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz eingeengt. Dann wurde der Sirup mit 96proz. Alkohol extrahiert, der Extrakt filtriert, der Alkohol verjagt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und dreimal mit Äther extrahiert. Dann wurde der Äther verdampft und mit dem Rückstand die Eisenchloridprobe ausgeführt. Sie fiel in sämtlichen vier Versuchen, die wir anstellten, ganz schwach positiv aus. Wir können somit die Angabe von *Savaré* bestätigen, daß sich die Salicylase nur in geringen Mengen in der Placenta findet.

### *Oxydasen.*

Im Hinblick darauf, daß bei Schwangeren in der Regel abnorme Pigmentierungen auftreten, untersuchten wir, ob vielleicht diese Erscheinung in irgend einem Zusammenhang mit der Placenta steht. Denn man konnte sich sehr wohl denken, daß von der Placenta Bestandteile ins mütterliche Blut gelangen, die in irgend einer Beziehung zu diesen abnormen Pigmentierungen stehen, sei es, daß sie die Muttersubstanz, sei es, daß sie das Ferment für dieselben liefern. A priori schien das letztere das wahrscheinlichere, und wir untersuchten deshalb die Placenta auf das Vorkommen von Oxydasen. Schon *Savaré* scheint Versuche in dieser Richtung angestellt zu haben, erwähnt aber nur kurz, daß ihm der Nachweis einer Tyrosinase in der Placenta nicht gelang. Wir stellten uns für unsere Versuche vollkommen blutfreies Placentagewebe her und rührten von dem möglichst zerkleinerten Material einen Teil mit zwei Teilen Wasser zu einem Brei an. Unsere Versuche waren zunächst darauf gerichtet, das Verhalten relativ leicht oxydabler Benzolderivate gegenüber dem Placentabrei zu prüfen. Als solche dienten uns zunächst Brenzkatechin und Adrenalin. Die Versuche wurden so angestellt, daß wir uns eine dünne Lösung von Brenzkatechin herstellten, davon 1,0 ccm entnahmen und mit 5,0 ccm Placentabrei versetzten; gleichzeitig wurde eine Kontrolle von 1,0 ccm Brenzcatechin mit 5,0 ccm Wasser bereitet. Beide Gläschen kamen darauf in ein Wasserbad von 38° C, und nun wurde auf den eventuellen Eintritt einer Farbenveränderung geachtet. In der Mehrzahl der Fälle trat schon nach einer Stunde eine leichte Änderung in der Färbung ein, das Gemisch bekam eine hellrosa Farbe, die sich in der zweiten Stunde nur wenig änderte. In der dritten Stunde wurde die Farbe schwach hellbraun, und am nächsten Tage hatte die Probe eine grau bis braunschwarze Färbung angenommen. Diesen Farbenwechsel beobachteten wir mit allen Placenten, die auf ihre Fähigkeit, Brenzcatechin zu oxydieren, untersucht wurden, und es unterliegt deshalb keinem Zweifel, daß eine gegen das Brenzcatechin gerichtete Oxydase, die wir analog der Bezeichnung Tyrosinase mit Brenzcatechinase benennen wollen, in der Placenta enthalten ist. In demselben Sinne fielen die Versuche mit Adrenalin aus. Hier verwandten wir denselben Placentabrei und setzten zu 5,0 ccm ein paar Tropfen (drei bis fünf) der käuflichen Lösung von Suprareninum hydrochloricum (1 : 1000). Die Umwandlung des Adrenalins ging weit langsamer vor sich. Meist sahen wir in den ersten Stunden der Beobachtung keine Veränderung in dem Gemisch auftreten, nur in den seltenen Fällen sahen wir nach dreistündiger Digestion eine ganz schwache hellrosa Färbung. Nach 24 Stunden dagegen war in allen Fällen eine kräftige rosa bis graurosa Färbung zu konstatieren und nach 48 Stunden eine dunkelbraune bis schwarze Farbe. Hiernach dürfen wir

annehmen, daß in der Placenta auch eine Adrenalase enthalten ist. Allerdings hat es den Anschein, daß das Adrenalin von der Placenta schwerer angegriffen wird als das Brenzcatechin. Sodann stellten wir Versuche mit Dioxyphenylalanin an, das unter dem Namen Dopareagens allgemein bekannt ist. Wir stellten uns eine schwache wässerige Lösung davon her und gaben dazu 5,0 ccm Placentabrei. Schon nach 30 Minuten langem Stehen beobachteten wir eine deutliche Verfärbung des Gemisches, nach 1 Stunde war der Inhalt des Gläschens dunkelgrau, nach 2 Stunden grauschwarz und am nächsten Tage tiefschwarz. In der Kontrolle hatte sich eine graue Farbe eingestellt. Somit ist die Placenta auch imstande, Dioxyphenylalanin zu oxydieren, und zwar scheint sie hierzu ganz besonders befähigt zu sein. Versuche mit Tyrosin, die wir nach den verschiedensten Richtungen hin modifizierten, fielen sämtlich negativ aus.

Es hat sich somit gezeigt, daß die Placenta imstande ist, aus Brenzcatechin, Adrenalin und Dioxyphenylalanin einen melaninartigen Farbstoff zu bilden, nicht dagegen aus Tyrosin. Die drei erstgenannten Produkte sind hydroxylierte Benzolderivate mit zwei Hydroxylgruppen, während Tyrosin nur eine OH-Gruppe hat. Demnach scheint in der Placenta ein Ferment vorhanden zu sein, dessen Wirkung nur gegen aromatische Produkte mit zwei OH-Gruppen gerichtet ist. Ein derartiger Befund beim Menschen ist bisher noch nicht erhoben worden. Wir wissen nur aus den Untersuchungen von *Gessard*[1]), daß sich in melanotischen Tumoren eine Tyrosinase findet. Auch das scheint nicht für alle Fälle zuzutreffen. Denn *Neuberg*[2]) konnte an einem Tumor der Nebenniere zeigen, daß das in ihm enthaltene Ferment wohl Adrenalin, aber nicht Tyrosin anzugreifen imstande ist.

Dieses Vorkommen einer von der Tyrosinase wesentlich verschiedenen Oxydase in der Placenta ist auch insofern interessant, als hier eine auffallende Übereinstimmung besteht mit den Oxydasen im Hühnerei. Denn *Koga*[3]) hat vor kurzem im hiesigen Laboratorium festgestellt, daß im Hühnereiweiß dasselbe Ferment sich findet wie das von uns in der Placenta nachgewiesene, und daß dieses Ferment ebenfalls wohl imstande ist, Brenzcatechin, Adrenalin und Dioxyphenyl anzugreifen, nicht dagegen Tyrosin.

## Zusammenfassung.

Die Placenta ist verhältnismäßig reich an Diastasen, viel reicher als die Leber. Das kommt daher, daß sie den größten Teil der ihr durch das mütterliche Blut zuströmenden Diastase in sich aufspeichert. Sie enthält Lactase in geringer Menge und ebenso ist ihr Gehalt an Invertase nicht sehr groß. Glykolyse konnte in ihr nicht nachgewiesen werden, wohl aber Carboxylase.

Es findet sich in ihr ein nicht sehr kräftig wirkendes Trypsin, daneben Erepsin, während die Untersuchung auf ein pepsinähnliches Ferment nur ein ganz schwach positives Resultat ergab. Lab konnte überhaupt nicht nachgewiesen werden. Eine Desamidase war mit Sicherheit nur für Asparagin festzustellen.

[1]) *Gessard*, C. r. **139**, 644, 1904.
[2]) *Neuberg*, Virchows Arch. **192**, 514, 1908.
[3]) *Koga*, diese Zeitschr. **141**, 430, 1923.

Von fettspaltenden Fermenten wurde Monobutyrase und Tributyrase gefunden. Die Tributyrase der Placenta unterscheidet sich von allen anderen tierischen Lipasen dadurch, daß sie sich sowohl Chinin wie auch Atoxyl gegenüber als vollkommen refraktär erwies. Sie steht in keiner Beziehung zur Serumlipase und ist deshalb als ein Produkt der Placentazelle selber zu betrachten.

Von sonstigen Fermenten konnten noch ein gut wirksames Histozym und eine schwach wirksame Salicylase festgestellt werden.

Endlich hat auch die Placenta die Fähigkeit, Brenzkatechin, Adrenalin und Dioxyphenylalanin zu oxydieren, während sie Tyrosin nicht anzugreifen vermag.

Diese Arbeit ist zum Teil aus Mitteln bestritten, die wir der *Hojimi-Hoshi*-Stiftung verdanken.

# Experimentelle Untersuchungen zur Frage von dem Wesen der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen.

Von

**Tadahide Seki (Osaka, Japan).**

(Aus der chemischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

*(Eingegangen am 11. Oktober 1923.)*

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen ist ein Phänomen, welches die Aufmerksamkeit der Physiologen schon frühzeitig auf sich gelenkt hat.

So wissen wir, daß schon *Hunter* (1) im Jahre 1797 systematische Untersuchungen über die Verschiedenheit der Senkungsgeschwindigkeit bei entzündlichen Prozessen angestellt hat, und daß sich weiterhin *Müller* (2), *Daby* (3) und *Nasse* (4) mit dieser Frage auch bei schwangeren Frauen eingehend beschäftigt haben. Dann geriet diese Beobachtung wieder in Vergessenheit und ist erst neuerdings durch Untersuchungen von *Fahraeus* (5) wieder aktuell geworden. Seitdem hat man das Verhalten der Blutkörperchen bei den verschiedensten Erkrankungen untersucht und gefunden, daß besonders für Lungentuberkulose die Senkungsgeschwindigkeit differentialdiagnostisch von Wichtigkeit ist, insofern, ob frische akute Prozesse oder chronisch verlaufende vorliegen. Im ersten Falle zeigt sich nämlich eine stark beschleunigte Senkungsgeschwindigkeit. Auch bei Lues fand man eine Beschleunigung, die mit dem Grade der allgemeinen Durchseuchung parallel geht, ebenso bei verschiedenen Infektionskrankheiten, bei Geisteskrankheiten, bösartigen Tumoren und anderen mehr.

Was nun die theoretische Erforschung des Problems anbetrifft, so ist zwar bis heute noch keine allgemein gültige Erklärung für dasselbe gefunden. Darin aber scheint sich die Mehrzahl der Autoren einig zu sein, daß mit erhöhtem Fibrinogengehalt des Blutes die Senkungsgeschwindigkeit zunimmt. Das hat als erster *Fahraeus* (5) festgestellt, und das ist auch von *Linzenmeyer*, *Starlinger*, *Sachs* und *v. Oettingen* bestätigt worden. Wie aber das vermehrte Fibrinogen auf die Sedimentation der Blutkörperchen wirkt, ist noch strittig. *Höber* (6) und seine Mitarbeiter hatten gefunden, daß im Gravidenblut die natürliche negative Ladung der Erythrocyten herabgesetzt ist, und daß Zusatz von Fibrinogen zu einer Suspension von Blutkörperchen deren negative Ladung vermindert. *Kanai* (7) prüfte dann weiter die einzelnen Fraktionen der Plasmaeiweißkörper und fand, daß

Fibrinogen und Pseudoglobulin stark, Albumin dagegen schwach entladend und sedimentierend auf die roten Blutkröperchen wirken. *Höber* (6) glaubt nun, daß im Gravidenblut und bei infektiösen Krankheiten in der Absorptionshülle der Blutkörperchen mehr oder weniger Globuline an die Stelle von Albumin treten, und daß so ihre Tendenz zur Ausflockung steigt, da der isoelektrische Punkt der Globuline, also die Reaktion, bei der ihre Flockungstendenz maximal ist, der neutralen Reaktion des Blutes näher liegt als der isoelektrische Punkt des Albumins. Dazu kommt noch eine gesteigerte Viskosität, durch welche der Blutkörperchenoberfläche ein verschiedenes Maß von Klebrigkeit erteilt wird. In etwas anderem Sinne äußert sich *v. Oettingen* (8) über dieses Phänomen; er meint, daß die Beschleunigung die Folge einer erhöhten Kolloidalstabilität (grober Dispersität) der Bluteiweißkörper ist, und daß diese sowohl im Plasma wie im Serum zum Ausdruck kommt. *Starlinger* (9) wieder meint, daß ein hoher Gehalt an niedrig dispersen Eiweißkörpern (Fibrinogen) durch Beraubung der Erythrocytenoberfläche an Polypeptiden die verminderte Suspensionsstabilität und erhöhte Agglutination bewirkt. Auf der anderen Seite stehen Autoren, welche jeden Zusammenhang von Fibrinogen und Senkungsgeschwindigkeit bestreiten. So hat *Kristen* (10) im Reagenzglase gezeigt, daß Zusatz von Cholesterin die Sedimentation stark beschleunigt; er schließt daraus und noch aus anderen Versuchen mit Lecithinzusatz, daß ausschlaggebend für die Senkungsgeschwindigkeit ein bestimmtes Verhältnis von Cholesterin zu Lecithin ist. Und ferner hat *Musa* (11) vor kurzem bei analytischen Untersuchungen des Blutes in der Gravidität gefunden, daß der Globulingehalt ganz unabhängig von der Senkungsgeschwindigkeit ist.

Bei dieser noch strittigen Lage der Dinge bin ich gern der Aufforderung von Herrn Prof. *Wohlgemuth* gefolgt, die Frage der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen durch experimentelle Untersuchungen am Tiere zu klären.

Wenn wirklich die Tatsache zutrifft, daß das Fibrinogen eine ausschlaggebende Rolle bei der Senkungsgeschwindigkeit spielt, so mußten Organe, welche an der Fibrinogenbereitung, sei es direkt oder indirekt, beteiligt sind, auch von Einfluß auf die Senkungsgeschwindigkeit sein. Nun wissen wir, daß die Leber in aller erster Reihe als Bildungsstätte des Fibrinogens anzusehen ist. Das geht einmal hervor aus allen denjenigen Arbeiten, welche gezeigt haben, daß bei direkter Leberschädigung die Fibrinogenmenge im Blute sehr stark abnimmt. Wir wissen das aber auch aus Versuchen, in welchen die Leber durch ein anderes Organ so beeinflußt werden kann, daß sie einen großen Teil ihres Fibrinogenvorrates an das Blut abgeben muß. Dieses Organ, welches eine solche Wirkung auf die Leber ausüben kann, ist, wie *Wohlgemuth* gezeigt hat, das Pankreas. Wenn man den Ausführungsgang des Pankreas unterbindet und so das gesamte Pankreassekret in den Drüsengängen zur Stauung bringt, so tritt das Sekret schließlich in das abfließende Blut der Pankreasvene über und strömt durch die Vena portarum in die Leber. Hier entfaltet es seine Wirkung einmal

auf den Kohlehydratbestand, dann aber auch auf den Eiweißbestand der Leberzellen und zwingt dieselben, den größten Teil ihres Vorrats an diesen Substanzen auszuschütten. *Wohlgemuth* (12) konnte nun unter anderem zeigen, daß neben einer Ausschwemmung von Glykogen und von Harnstoff aus der Leber auch eine solche von Fibrinogen statthat.

Wenn nun wirklich die Senkungsgeschwindigkeit abhängig war von dem jeweiligen Fibrinogengehalt des Blutes, so mußte nach Unterbindung des Pankreasganges die Senkungsgeschwindigkeit erheblich zunehmen. Schon früher hatte man, wie ich oben gezeigt habe, durch Zusatz von Fibrinogenlösungen im Reagenzglase die Senkungsgeschwindigkeit studiert und gefunden, daß dadurch eine deutliche Beschleunigung bedingt wird. Aber diese Versuche sind und bleiben immer nur Reagenzglasversuche und können das Experiment am lebenden Tiere doch nicht ganz ersetzen. Denn wenn man zum Blute eine Fibrinogenlösung zusetzt, so weiß man nie, wie dieser Zusatz auf die korpuskularen Elemente wirkt; auch wenn keine Hämolyse eintritt, kann eine Schädigung oder Veränderung der Blutkörperchen stattfinden, ohne daß wir sie mit dem Auge wahrnehmen können. Den Einfluß des Fibrinogens kann man aber in voller Reinheit am besten untersuchen, wenn man die Fibrinogenmenge im Blute steigert, ohne irgend etwas an dem Milieu der roten Blutkörperchen zu ändern. Diese Möglichkeit ist durch die Unterbindung des Ausführungsganges des Pankreas am lebenden Tiere gegeben.

Ich habe nun zunächst die Versuche von *Wohlgemuth* (12) mit Unterbindung des Pankreasganges wiederholt und den Fibrinogengehalt des Blutes vorher und nachher bestimmt. Dabei habe ich die Methode der Fibrinogenbestimmung von *Wohlgemuth* (13) angewandt, nur mit dem Unterschied, daß ich statt Magnesiumsulfatplasma für meine Untersuchungen Citratplasma verwenden mußte. Denn mit dem gleichen Plasma wurde auch die Senkungsgeschwindigkeit bestimmt, und hierfür eignet sich nicht das sonst gebräuchliche Magnesiumsulfatplasma.

Zu diesem Zwecke habe ich das Citratplasma so hergestellt, daß ich das aus einer Vene fließende Blut in einen Meßzylinder auffing, der eine bestimmte, genau gemessene Menge 5proz. Natriumcitratlösung enthielt. Die Mischung geschah stets im Verhältnis von 1 : 10. Durch Zentrifugieren wurde das Plasma zunächst von seinen korpuskularen Elementen befreit und dann mit dem farblosen Plasma selbst eine Reihe von Reagenzgläsern mit absteigenden Mengen beschickt. Dann wurde zu jedem Gläschen die gleiche Menge Fibrinferment zugefügt und die ganze Reihe auf 24 Stunden in den Eisschrank gestellt. Während dieser Zeit wird das Fibrinogen unter dem Einfluß des Fibrinferments in Fibrin übergeführt; dabei kann man beobachten, daß je nach der vorhandenen Menge von Fibrinogen in den Reagenzgläsern der Inhalt derselben ganz oder teilweise geronnen ist.

Die Ergebnisse meiner Versuche habe ich in folgender Weise bezeichnet:

+++ = komplett,
++ = fast komplett,
+ = partiell,
± = Spuren,
— = negativ.

Von den zahlreichen Versuchen, die ich zum Teil an Kaninchen, zum Teil am Hunde ausgeführt habe, bringe ich nur zwei und gebe das Resultat dieser Versuche in folgenden zwei Tabellen wieder.

*Tabelle I.* (Kaninchen.)

| Fibrinogen-menge | Vor der Unterbdg. (29. IX.) | Nach der Unterbindung (30. IX. 1922) 2. X. | 4. X. | 6. X. | 9. X. | 13. X. | 19. X. | 23. X. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1,0 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,5 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,25 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,125 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,063 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 0,032 | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ |
| 0,016 | + | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ |
| 0,008 | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 0,004 | — | + | + | + | + | + | ± | ± |
| 0,002 | — | + | + | + | ± | ± | — | — |
| 0,001 | — | ± | ± | ± | — | — | — | — |
| 0,0005 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Fibrinogen-einheit (Fg.) | 125 | 500 | 500 | 500 | 250 | 250 | 125 | 125 |

*Tabelle II.* (Kaninchen.)

| Fibrinogen-menge | Vor der Unterbdg. (6. VI.) | Nach der Unterbindung (7. VI. 1922) 8. VI. | 9. VI. | 10. VI. | 12. VI. | 13. VI. | 14. VI. | 15. VI. | 16. VI. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Fg. | 125 | 125 | 500 | 500 | 500 | 500 | 125 | 125 | 62,5 |

Aus beiden Versuchen geht deutlich hervor, daß bald nach der Unterbindung des Pankreasganges eine starke Zunahme des Fibrinogens im Blute stattfindet, die sofort nach der Operation maximal ist, sich mehrere Tage auf dieser Höhe hält und dann allmählich wieder zur Norm zurückkehrt. Ich habe im ganzen 12 Tiere operiert, in 11 Fällen habe ich stets die gleiche Beobachtung wie in den beiden hier mitgeteilten gemacht; nur in einem Falle blieb die Fibrinogenvermehrung merkwürdigerweise aus. Dieser negative Ausfall ist entweder so zu erklären, daß infolge der Unterbindung und Durchschneidung des Pankreasganges die Sekretion im Pankreas sofort sistierte und dadurch kein Sekret ins Blut übertrat, oder so, daß die um den Ausführungsgang gelegte Ligatur sich gelockert hatte, so daß das Sekret statt sich in der Drüse zu stauen und schließlich in großem Strom in das Blut und die Leber überzutreten, sich in die Bauchhöhle ergoß und hier nur ganz allmählich zur Resorption kam, so daß es ohne Einfluß auf die Leber blieb.

Die Erklärung, weshalb das Fibrinogen allmählich wieder seinen normalen Wert erreicht, dürfte kaum Schwierigkeiten machen. Aller Wahrscheinlichkeit nach liegen hier die Verhältnisse so, daß unmittelbar

nach der Unterbindung und Durchschneidung des Ausführungsganges das Pankreas noch ständig weiter sezerniert, bis der Druck, den das sich ansammelnde Sekret in den Drüsengängen bedingt, so groß ist, daß die sezernierenden Drüsenzellen komprimiert werden und schließlich ihre Tätigkeit einstellen. Dann hört auch bald der Übertritt von Pankreassekret ins Blut auf, und der Reiz, der bis dahin auf die Fibrinogen produzierende Leberzelle ausgeübt wurde, wird immer schwächer, bis er schließlich ganz erlischt. Eine Stütze für diese Erklärung finden wir in dem Verhalten der Diastase im Blute und im Urin nach Pankreasgangunterbindung, über das *Wohlgemuth* (12) bei seinen ersten Unterbindungsversuchen ausführlich berichtet hat. Wir haben hier den gleichen Anstieg der Diastasenkurve in den ersten Tagen und einen allmählichen Abfall nach 6 bis 8 und den darauf folgenden Tagen.

Neben dem Fibrinogen wurde auch das Fibrinferment im Blute bestimmt und in Übereinstimmung mit der Beobachtung von *Wohlgemuth* (12) weder eine Vermehrung noch eine Verminderung desselben gefunden.

Gleichzeitig mit diesen orientierenden Vorversuchen wurden Untersuchungen über die Senkungsgeschwindigkeit des Blutes vor und nach der Unterbindung angestellt.

Ich bediente mich dabei der von *Linzenmeyer* (14) beschriebenen Röhrchen von 6,5 cm Höhe und 0,5 cm Lichtweite mit einer Markierung in je 1 mm Abstand bis zu 28 mm. Das zum Versuche benötigte Blut wurde dem Tiere aus der Ohrvene — beim Hunde aus der Außenvene der Hinterpfote — entnommen und in einen kleinen Meßzylinder aufgefangen, in dem bereits die erforderliche Menge an Citratlösung sich befand. Sobald die genügende Menge Blut zugeflossen war, wurde durch langsames Umkehren des verschlossenen Zylinders die Durchmischung vollzogen und das Citratblut in die Röhrchen gefüllt. Nach Verlauf von ½, 1, 2, 3 und 4 Stunden wurde der Stand der Blutkörperchen an der Skala abgelesen. Zum Aufstellen der Röhrchen bedienten wir uns der Einfachheit halber kleiner Pappschachteln mit passender Bohrung.

Auf diese Weise bestimmte ich zunächst vor dem Eingriff an verschiedenen Tagen die Senkungsgeschwindigkeit des normalen Blutes und erhielt stets ein übereinstimmendes Resultat. Danach wurde in Äthernarkose der Pankreasgang unterbunden und durchschnitten und meistens bereits am zweiten Tage nach der Operation und den darauffolgenden wiederum die Senkungsgeschwindigkeit gemessen. Diese Versuche wurden an einer großen Zahl von Tieren (Kaninchen, Hunden) angestellt. Da aber das Resultat in allen Fällen im gleichen Sinne ausfiel, begnüge ich mich mit der Mitteilung von nur zwei Fällen. Das Resultat dieser beiden Fälle teile ich in Form von Tabellen mit:

*Tabelle III.* (Kaninchen.)

| Senkung in mm nach | Vor der Operation (5. VI.) | Nach der Operation (7. VI. 1922) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 8. VI. | 9. VI. | 10. VI. | 12. VI. | 13. VI. | 14. VI. | 15. VI. | 16. VI. |
| ½ Std. | ± | 2 | 4 | 4 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 |
| 1 „ | 1 | 5 | 9 | 10 | 8 | 6 | 2 | 2 | 2 |
| 2 „ | 2 | 10 | 15 | 17 | 14 | 14 | 3 | 3 | 3 |
| 3 „ | 3 | 12 | 17 | 19 | 17 | 18 | 6 | 5 | 4 |
| 4 „ | 4 | 13 | 18 | 22 | 18 | 19 | 8 | 6 | 6 |
| 24 „ | 16 | 22 | 27 | 29 | 28 | 27 | 20 | 19 | 19 |

*Tabelle IV.* (Hund.)

| Senkung in mm nach | Vor der Operation (5. IX.) | Nach der Operation (6. IX. 1922) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 7. IX. | 8. IX. | 9. IX. | 11. IX. | 12. IX. | 13. IX. | 15. IX. | 16. IX. |
| 1/2 Std. | 1 | 2 | 2 | 3 | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| 1 „ | 2 | 4 | 6 | 8 | 9 | 8 | 7 | 4 | 3 |
| 2 „ | 6 | 8 | 13 | 13 | 14 | 12 | 13 | 8 | 7 |
| 3 „ | 8 | 11 | 15 | 15 | 16 | 14 | 16 | 10 | 8 |
| 4 „ | 9 | 14 | 17 | 17 | 17 | 16 | 17 | 12 | 10 |
| 24 „ | 18 | 20 | 20 | 20 | 21 | 19 | 20 | 19 | 19 |

Aus diesen beiden Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß nach der Unterbindung des Pankreasganges die Senkungsgeschwindigkeit erheblich zunimmt. Schon am zweiten Tage nach der Unterbindung ist sie ganz wesentlich verstärkt und nimmt an den nächstfolgenden Tagen noch weiter zu, so daß beispielsweise beim Kaninchen am dritten Tage nach dem Eingriff die Senkung der roten Blutkörperchen nach 2 Stunden bereits so weit vorgeschritten ist, wie im normalen Blute erst nach Verlauf von 24 Stunden. Ganz ähnliche Werte ergibt der Versuch am Hunde. Diese Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit hält etwa 7 bis 8 Tage an und nähert sich dann allmählich wieder der Norm.

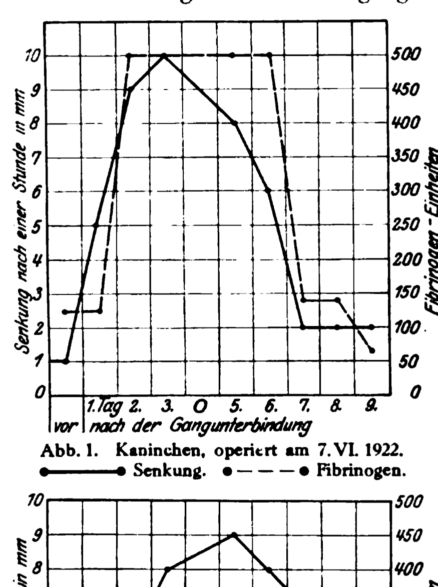



Abb. 1. Kaninchen, operiert am 7. VI. 1922.
●——● Senkung. ●– – –● Fibrinogen.

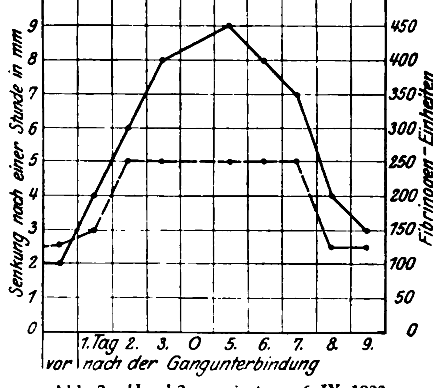



Abb. 2. Hund 2, operiert am 6. IX. 1922.

Bei diesen beiden Tieren wurde wie bei allen anderen auch gleichzeitig das Verhalten des Fibrinogens bestimmt, und es konnte deutlich ein Parallelismus zwischen Zunahme der Senkungsgeschwindigkeit und Ansteigen der Fibrinogenmenge beobachtet werden. Als Beweis führe ich die Fibrinogenwerte von beiden Versuchen zusammen mit den für die Senkungsgeschwindigkeit ermittelten Zahlen in Form von Kurven an. Da es nicht möglich ist, den Verlauf der Senkungsgeschwindigkeit für den ganzen Tag fortlaufend kurvenmäßig darzustellen, begnüge ich mich, den Stand der roten Blutkörperchen von jedem Tage in der ersten Stunde nach Beginn des Versuches wiederzugeben.

Beide Tafeln lassen ohne weiteres erkennen, daß mit der Zunahme des Fibrinogengehaltes sofort eine Zunahme der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen eintritt und so lange anhält, als die Fibrinogenwerte gegenüber dem Zustande vor der Operation vermehrt sind. Erst wenn diese wieder zur Norm zurückkehren, ist auch die Senkungsgeschwindigkeit wieder eine normale. Somit haben auch die Versuche am lebenden Tiere gezeigt, daß Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen und Fibrinogengehalt in engem Zusammenhang stehen.

## II.

Es fragte sich nun, ob diese Beeinflussung der Senkungsgeschwindigkeit schon durch verhältnismäßig kleine Fibrinogenmengen bewirkt wird, ober ob hierzu große Quantitäten erforderlich sind.

Statt mit künstlich hergestellten Fibrinogenlösungen zu arbeiten, verwandten wir zu unseren Versuchen das an Fibrinogen so reiche Plasma operierter Tiere und gingen dabei so vor, daß wir zu einer bestimmten Menge normalen Plasmas jenes in aufsteigender Menge und dann zu dem Gemisch in entsprechender Menge rote Blutkörperchen desselben Tieres zusetzten. Bei dieser Versuchsanordnung war zunächst festzustellen, wie überhaupt Änderung der Konzentration des Plasmas auf die Senkungsgeschwindigkeit wirkt. Wir untersuchten deshalb zuerst in einem Vorversuche, welchen Einfluß aufsteigende Mengen einer physiologischen Kochsalzlösung haben.

Wir gingen dabei so vor, daß wir 1,00 ccm normales Kaninchenplasma mischten, mit 0,1 ccm 0,85proz. NaCl-Lösung und 1,0 ccm dieses Gemisches mit 0,5 ccm Blutkörperchen versetzten. Damit wurde dann ein Röhrchen beschickt. Die zweite Mischung bestand aus 1,0 ccm Plasma + 0,2 ccm 0,85proz. NaCl, davon 1,0 ccm + 0,5 ccm Blutkörperchen. Die dritte Mischung 1,0 ccm Plasma + 0,5 ccm 0,85proz. NaCl-Lösung, davon 1,0 ccm + 0,5 ccm Blutkörperchen, die vierte Mischung 1,0 ccm Plasma + 1,0 ccm 0,845proz. NaCl-Lösung, davon 1,0 ccm + 0,5 ccm Blutkörperchen. Von sämtlichen Mischungen wurde je 1,0 ccm in ein Röhrchen gefüllt und die Senkung in stündlichen Intervallen notiert. Das Resultat ist aus Tabelle V ersichtlich.

*Tabelle V.*

| Normales Plasma | 8,85 proz. NaCl-Lösung | Senkung in mm nach 1 Std. | 2 Std. | 3 Std. | 4 Std. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1,0 | — | 1 | 3 | 4 | 5 |
| 1,0 | 0,1 | 1 | 2 | 3 | 3 |
| 1,0 | 0,2 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| 1,0 | 0,5 | ± | 1 | 1 | 2 |
| 1,0 | 1,0 | ± | 1 | 1 | 1 |

Der Versuch zeigt, daß, obwohl das Plasma durch Zusatz von Kochsalzlösung fortschreitend dünner wird, die Senkungsgeschwindigkeit immer langsamer wird. Die Erklärung hierfür ist gegeben durch die Tatsache, daß in Gegenwart von physiologischer Kochsalzlösung die negative Lastung der Blutkörperchen eine besonders hohe ist.

Hiernach wurde nun geprüft, wie Zusatz von Plasma eines Tieres, dem der Pankreasgang unterbunden war, zu normalem Plasma auf die Senkung von roten Blutkörperchen wirkt. Es wurde in ganz analoger Weise hier wie in dem vorhergehenden Versuche verfahren, indem Mischung von normalem Plasma mit aufsteigender Menge des operierten Plasmas hergestellt und 1,0 ccm dieses Gemisches mit 0,5 ccm ungewaschener normaler Blutkörperchen versetzt und auf die einzelnen Röhrchen verteilt wurden. Das Resultat eines solchen Versuches ist aus Tabelle VI ersichtlich.

*Tabelle VI.*

| Plasma normaler Kaninchen | Plasma operierter Kaninchen | Senkung in mm nach | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $^1/_2$ Std. | 1 Std. | 2 Std. | 3 Std. | 4 Std. |
| 1,0 | — | 1 | 1 | 4 | 5 | 6 |
| 1,0 | 0,05 | 2 | 3 | 6 | 8 | 10 |
| 1,0 | 0,1 | 2 | 3 | 6 | 9 | 10 |
| 1,0 | 0,2 | 2 | 3 | 6 | 9 | 11 |
| 1,0 | 0,5 | 2 | 3 | 6 | 10 | 12 |
| 1,0 | 1,0 | 4 | 6 | 16 | 19 | 22 |

Wir sehen aus diesem Versuche, daß schon ein minimaler Zusatz von Plasma eines operierten Tieres genügt, um eine deutliche Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit zu bewirken. Diesen Versuch haben wir des öfteren wiederholt und stets das gleiche Resultat feststellen können.

Umgekehrt wurde nun geprüft, ob Zusatz von normalem Plasma zu dem eines operierten Tieres nach irgend einer Richtung hin die Senkungsgeschwindigkeit beeinflussen kann. Die Versuchsanordnung war hier die gleiche wie im vorhergehenden Versuche, nur mit dem Unterschiede, daß das Plasma des operierten Tieres konstant gehalten und der Zusatz von normalem Plasma variiert wurde. Das Resultat dieses Versuches gibt Tabelle VII wieder.

*Tabelle VII.*

| Plasma operierter Kaninchen | Plasma normaler Kaninchen | Senkung in mm nach | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $^1/_2$ Std. | 1 Std. | 2 Std. | 3 Std. | 4 Std. |
| 1,0 | — | 3 | 5 | 12 | 15 | 17 |
| 1,0 | 0,05 | 3 | 4 | 8 | 10 | 11 |
| 1,0 | 0,1 | 2 | 4 | 8 | 9 | 10 |
| 1,0 | 5,5 | 2 | 3 | 7 | 8 | 9 |
| 1,0 | 1,0 | 2 | 3 | 6 | 8 | 9 |

Hiernach genügt schon eine verschwindend kleine Menge von normalem Plasma um die Senkungsgeschwindigkeit deutlich herabzusetzen. Durch Zusatz von noch größeren Mengen wird der hemmende Einfluß natürlich noch stärker.

Auch diese Versuche haben wir des öfteren wiederholt und stets das gleiche Resultat gefunden. Die Konstanz dieses Befundes legt die Vermutung nahe, ob nicht im normalen Plasma eine Substanz enthalten ist, die hemmend auf die Senkung der Blutkörperchen wirkt. Diese Vermutung scheint um so mehr berechtigt, als Kontrollversuche mit Plasma von operierten Tieren und den entsprechenden minimalen Kochsalzlösungsmengen

ohne jeden Einfluß auf die Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit bleiben.

Alsdann untersuchten wir das Verhalten der Blutkörperchen selber bei dem Senkungsprozeß. Schon *Linzenmeyer* (14) hat derartige Versuche angestellt mit ungewaschenen und gewaschenen Blutkörperchen und gefunden, daß Blutkörperchen, die von einem Blute mit beschleunigter Senkungsgeschwindigkeit stammen, dieselbe auch zeigen in einem normalen Plasma. Wenn man dagegen die Blutkörperchen vorher wäscht, so verlieren sie diese Eigenschaft. Zu dem gleichen Resultat sind auch wir gekommen, wenn wir die Blutkörperchen von Hund oder Kaninchen nach Gangunterbindung auf ihr Senkungsvermögen in gewaschenem oder nicht gewaschenem Zustande untersuchten.

Wir gingen dabei so vor, daß wir von einem Hunde nach Gangunterbindung uns Citratblut in der üblichen Weise herstellten und durch scharfes Zentrifugieren das Plasma von den Blutkörperchen trennten. Die Blutkörperchen wurden in zwei Teile geteilt, und der eine Teil zweimal mit 0,85 proz. NaCl-Lösung gewaschen, der andere Teil unbehandelt gelassen. Nun wurden je 0,6 ccm Plasma mit je 0,4 ccm Blutkörperchen beider Art gemischt und die Senkungsgeschwindigkeit registriert. Das Ergebnis war folgendes:

*Tabelle VIII.*

| Zeit | Plasma operierten Hundes, 0,6 ccm | | Plasma operierten Kaninchens, 0,6 ccm | |
|---|---|---|---|---|
| | + nicht gewaschene Blutkörperchen 0,4 | + gewaschene Blutkörperchen 0,4 | + nicht gewaschene Blutkörperchen 0,4 | + gewaschene Blutkörperchen 0,4 |
| 1/2 Std. | 6 mm | 3 mm | 2 mm | 1 mm |
| 1 „ | 12 „ | 5 „ | 4 „ | 2 „ |
| 2 „ | 18 „ | 9 „ | 8 „ | 3 „ |
| 3 „ | 22 „ | 11 „ | 12 „ | 4 „ |
| 4 „ | 22 „ | 15 „ | 14 „ | 5 „ |

Wie sehen also, daß die Blutkörperchen von operierten Tieren nach Gangunterbindung das gleiche Verhalten zeigen wie die Blutkörperchen im Blute von Schwangeren.

Nun untersuchten wir weiter, wie Blutkörperchen von normalen Tieren sich im Plasma operierter Tiere verhalten, und gingen dabei in der gleichen Weise wie im vorigen Versuche vor, indem wir sowohl gewaschene wie ungewaschene Blutkörperchen hierfür verwandten. Als Beleg führe ich einen Versuch an und zur Kontrolle einen Versuch mit Blutkörperchen von demselben operierten Tiere.

*Tabelle IX.*

| Zeit | Plasma operierten Kaninchens, 0,6 ccm Blutkörperchen desselben Tieres | | Plasma operierten Kaninchens, 0,6 ccm Blutkörperchen von norm. Kaninchen | |
|---|---|---|---|---|
| | nicht gewaschene 0,4 | gewaschene 0,4 | nicht gewaschene 0,4 | gewaschene 0,4 |
| 1/2 Std. | 9 mm | 7 mm | 5 mm | 1 mm |
| 1 „ | 18 „ | 12 „ | 10 „ | 3 „ |
| 2 „ | 27 „ | 16 „ | 17 „ | 5 „ |
| 3 „ | 27 „ | 19 „ | 20 „ | 7 „ |
| 4 „ | 28 „ | 20 „ | 22 „ | 9 „ |

Wir sehen aus diesem Versuche, daß Blutkörperchen eines normalen Tieres im Plasma des operierten Tieres die gleiche Senkungsgeschwindigkeit entfalten wie Blutkörperchen des operierten Tieres, die vorher mit Kochsalzlösung gewaschen waren. Wurden sie dagegen vorher gewaschen, so war trotz des stark wirksamen Plasmas die Senkungsgeschwindigkeit sehr stark verzögert. Danach hat es den Anschein, als ob durch das Waschen den Blutkörperchen die Eigenschaft genommen wird, dem Einfluß des Plasmas zu folgen.

Endlich haben wir noch Blutkörperchen von operierten Tieren mit stark beschleunigter Senkungsgeschwindigkeit in ungewaschenem wie gewaschenem Zustande mit Plasma von normalen Tieren zusammengebracht und ihr Verhalten untersucht und fanden folgendes:

*Tabelle X.*

| Zeit | Plasma normaler Kaninchen, 0,6 ccm | | |
|---|---|---|---|
| | + operierter Kaninchen Blutkörperchen | | + norm. Kaninchen Blutkörperchen nicht gewaschen 0,4 |
| | nicht gewaschene 0,4 | gewaschene 0,4 | |
| 1/2 Std. | 1 mm | ± | ± |
| 1 " | 4 " | 1 mm | 1 mm |
| 2 " | 8 " | 2 " | 2 " |
| 3 " | 8 " | 3 " | 4 " |
| 4 " | 9 " | 4 " | 5 " |

Das Ergebnis entsprach unserer Erwartung: Nicht gewaschene Blutkörperchen vom operierten Kaninchen zeigten ein schnelles Senkungsvermögen, gewaschene unterschieden sich um nichts von Blutkörperchen des normalen Tieres.

Dieses Verhalten der Blutkörperchen dürfte sich am zwanglosesten wohl so erklären, daß die Blutkörperchen den einmal angenommenen Zustand ihrer elektrischen Ladung ziemlich fest beibehalten, auch wenn sie in ein Milieu kommen, in dem die elektrischen Bedingungen wesentlich andere sind als früher. Nur so erklärt sich, daß Blutkörperchen mit starker Senkungsgeschwindigkeit also mit sehr geringer negativer Ladung, auch im Plasma eines normalen Tieres ihr beschleunigtes Senkungsvermögen fast unverändert beibehalten, andererseits Blutkörperchen, die mit Kochsalz gewaschen sind und dadurch eine starke negative Ladung bekommen haben, auch in einem Plasma mit stark positiver Ladung nur sehr wenig von ihrer Ladung verlieren. Es wäre natürlich sehr wünschenswert gewesen, diese Verhältnisse mit Hilfe der Kataphorese zu verfolgen, leider standen uns aber die Hilfsmittel hierfür nicht zur Verfügung.

## III.

Hiernach prüften wir, analog dem Vorgehen von *Linzenmeyer*, das Verhalten von Plasma operierter Tiere verschiedenen Sorbenzien gegenüber. Da anzunehmen war, daß die im Plasma wirksamen Substanzen eine elektropositive Ladung besitzen, untersuchten wir zunächst den Einfluß des negativ geladenen Kaolins.

Wir gingen dabei so vor, daß wir von einem frisch operierten Tiere (Kaninchen, Hunde) das Blut zunächst auf die Senkungsgeschwindigkeit

untersuchten und nachdem wir uns von dem Gelingen des operativen Eingriffes überzeugt hatten, trennten wir das Citratplasma von den roten Blutkörperchen und versetzten 4 ccm Plasma mit 1,0 g Kaolin. Dieses Gemisch wurde in einer langsam gehenden Schüttelmaschine ½ Stunde geschüttelt und dann das Senkungsvermögen aufs neue geprüft. Gleichzeitig wurde festgestellt, um wieviel die Fibrinogenmenge durch die Behandlung mit Kaolin im Plasma abgenommen hat. In der Tabelle XI führe ich zwei Versuche an operierten Kaninchen und einen Versuch am Plasma einer Graviden an. Die Mischung von Plasma und Blutkörperchen geschah wie bisher im Verhältnis von 3 : 2, die zum Versuche verwandten Blutkörperchen waren nicht gewaschen.

*Tabelle XI.*

| Zeit | Kaninchen I Kaolinbehandlung | | Kaninchen II Kaolinbehandlung | | Schwangere im 9. Monat Kaolinbehandlung | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | vor | nach | vor | nach | vor | nach |
| ½ Std. | 3 mm | — | 2 mm | — | 20 mm | — |
| 1 „ | 6 „ | 1 mm | 5 „ | 1 mm | 27 „ | — |
| 2 „ | 14 „ | 2 „ | 12 „ | 1 „ | 28 „ | 2 mm |
| 3 „ | 18 „ | 3 „ | 16 „ | 2 „ | 28 „ | 3 „ |
| 4 „ | 19 „ | 3 „ | 18 „ | 3 „ | — | — |
| Fg. | 250 | 0 | 250 | 0 | 500 | 0 |

Dieser Versuch bestätigt zunächst einmal den Befund von *Linzenmeyer* (14), daß durch die Behandlung mit Kaolin das Plasma zum größten Teil seine Senkungswirkung einbüßt. Ein geringer Teil aber bleibt noch erhalten. Diese Tatsache steht, wenn wir gleichzeitig das Verhalten des Fibrinogens vor und nach der Kaolinbehandlung in Betracht ziehen, in gewissem Gegensatz zu der bisher allgemein üblichen Annahme, daß der ausschlaggebende Faktor für die Senkung der roten Blutkörperchen allein das Fibrinogen ist. Denn nach obigem Befunde ist durch die Behandlung des Plasmas mit Kaolin sämtliches Fibrinogen aus dem Plasma eliminiert. Trotzdem hat die Lösung ihre Wirkung nicht ganz verloren. Das dürfte darauf hinweisen, daß wohl nicht ausschließlich das Fibrinogen bei der Senkung der roten Blutkörperchen eine Rolle spielt, sondern daß im Blutplasma noch andere Substanzen enthalten sind, die senkungsbeschleunigend wirken. Denn wenn auch die Werte, die wir nach der Kaolinbehandlung festgestellt haben, im Vergleich zu den unvorbehandelten Mischungen sehr klein sind, so liegen sie doch wenigstens für das Kaninchen innerhalb der Größenordnung der Senkung von Blutkörperchen eines normalen Tieres. Zu einem ganz ähnlichen Resultat kam *Oettingen* (5), allerdings auf anderem Wege. Er hatte einerseits zu Neugeborenenplasma, andererseits zu Gravidenserum in gleichem Verhältnis Fibrinogen gesetzt und festgestellt, daß, trotzdem im ersten Falle weit mehr Fibrinogen in dem Gemisch vorhanden war, die Senkungsgeschwindigkeit dort schwächer war als im Gravidenserum, das an sich keine Spur von Fibrinogen mehr enthielt. Er schloß daraus mit Recht, daß auch die Serumbestandteile im Gravidenblute für die Senkungsbeschleunigung nicht gleichgültig sind, und konnte dann

auch direkt zeigen, daß im Gravidenserum die Senkung der Blutkörperchen viel schneller vor sich geht als im Nabelschnurserum.

Als Vertreter eines positiv geladenen Adsorbens benutzten wir reinste Fasertonerde (*Merck*) und schüttelten 4 ccm Plasma des operierten Tieres mit 0,5 g Fasertonerde eine halbe Stunde lang auf der Schüttelmaschine. Danach wurde abzentrifugiert und das Plasma in dem üblichen Verhältnis mit Blutkörperchen gemischt und die Senkungszahlen bestimmt. Gleichzeitig wurde vor und nach der Behandlung mit Aluminiumoxyd das Fibrinogen quantitativ ermittelt. Ich führe in Tabelle XII je einen Versuch am Hunde und am Kaninchen an.

*Tabelle XII.*

| Zeit | Hundeplasma. Fasertonerde-Behandlung | | Kaninchenplasma. Fasertonerde-Behandlung | |
|---|---|---|---|---|
| | vor | nach | vor | nach |
| 1/2 Std. | 12 mm | 1 mm | 1 mm | ± |
| 1 „ | 18 „ | 2 „ | 2 „ | ± |
| 2 „ | 20 „ | 5 „ | 3 „ | 1 mm |
| 3 „ | 22 „ | 7 „ | 4 „ | 1 „ |
| 4 „ | 24 „ | 11 „ | 5 „ | 2 „ |
| Fg. | 250 | 62,5 | 250 | 62,5 |

Aus diesem Versuche geht ohne Zweifel hervor, daß nach Behandlung des Plasmas mit Fasertonerde die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen ganz bedeutend abnimmt. Damit geht gleichzeitig einher eine deutliche Abnahme der Fibrinogenmenge, allerdings ist dieselbe lange nicht so erheblich wie die Abnahme der Senkungszahlen. Dieser Befund steht im Widerspruch mit den Beobachtungen von *Linzenmeyer* (14), der allerdings ein anderes, positiv geladenes Sorbens, nämlich Eisenhydroxyd für seine Versuche verwandte. Es dürfte sich am ungezwungensten vielleicht so erklären, daß durch die Behandlung mit Aluminiumoxyd neben der Fibrinogenkomponente auch noch andere Eiweißbestandteile aus dem Plasma entfernt worden sind, die für die Beschleunigung der Senkung von Wichtigkeit sind. Daß solche Substanzen im Plasma vorhanden sein müssen, haben wir durch die Kaolinversuche wahrscheinlich gemacht und geht auch aus den bereits erwähnten Versuchen von *Oettingen* (8) hervor. Es blieb nur noch zu zeigen, daß Aluminiumoxyd tatsächlich imstande ist, außer Fibrinogen auch Serumbestandteile aus Blut zu eliminieren. Davon konnten wir uns zu wiederholten Malen überzeugen, wenn wir Serum mit Fasertonerde behandelten. Als Beleg führen wir zwei Versuche an.

*Tabelle XIII.*

| | Kaninchenserum I. Fasertonerde-Behandlung | | Kaninchenserum II. Fasertonerde-Behandlung | | Kaninchenserum III. Fasertonerde-Behandlung | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | vor | nach | vor | nach | vor | nach |
| Ff. (Fibrinferment) | 500 | 62,5 | 250 | 15,125 | 500 | 62,5 |

Wir sehen hier in jedem Falle eine starke Abnahme des Fibrinferments, und wir möchten glauben, daß der Verlust an irgend einem negativ geladenen Serumeiweißkörper für die Abnahme der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen nach Behandlung mit der positiv geladenen Fasertonerde verantwortlich zu machen ist.

## IV.

Sodann untersuchten wir den Einfluß von verschiedenen Temperaturen auf die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen und kontrollierten gleichzeitig, ob sich der Fibrinogengehalt dabei irgendwie geändert hat. Schon *Linzenmeyer* hatte derartige Versuche angestellt und beobachtet, daß Inaktivieren des Plasmas bei 56⁰ die Senkungsgeschwindigkeit stark abschwächt und daß Abkühlen des Plasmas den gleichen Effekt hat. Zu demselben Resultat war *Oettingen* (8) gekommen.

Wir prüften zunächst den Einfluß von 40° C auf die Senkung, indem wir Citratplasma 30 Minuten bei dieser Temperatur hielten und dann das wieder auf Zimmertemperatur abgekühlte Plasma mit Blutkörperchen im Verhältnis von 3 : 2 mischten. Dabei konnten wir keine Veränderung gegenüber dem nicht erwärmten Plasma konstatieren, und auch der Fibrinogengehalt war der gleiche geblieben.

Sodann setzten wir frisches Citratplasma 30 Minuten lang einer Temperatur von 50° C aus und prüften danach in der gleichen Weise die Senkung und den Fibrinogengehalt. Dabei zeigte sich folgendes:

*Tabelle XIV.*

| Zeit | Kaninchenplasma | | Hundeplasma | |
|---|---|---|---|---|
| | vor | nach | vor | nach |
| | Erwärmung bei 50° C | | Erwärmung bei 50° C | |
| $^1/_2$ Std. | 1 mm | 1 mm | 8 mm | 1 mm |
| 1 „ | 4 „ | 1 „ | 11 „ | 2 „ |
| 2 „ | 5 „ | 3 „ | 14 „ | 4 „ |
| 3 „ | 6 „ | 5 „ | 15 „ | 5 „ |
| 4 „ | 7 „ | 6 „ | 16 „ | 6 „ |
| Fg. | 250 | 10,125 | 500 | 0 |

In Übereinstimmung mit den früheren Autoren sehen wir auch in unseren Versuchen eine deutliche Abnahme der Senkungszahlen. Gleichzeitig ergab die quantitative Fibrinogenbestimmung eine starke Abnahme des Fibrinogens im Kaninchenplasma, im Hundeplasma sogar ein völliges Verschwinden des Fibrinogens. Besonders auffallend in dem Versuche mit Hundeplasma ist wieder das gänzliche Fehlen des Fibrinogens, ohne daß dabei die Senkungsgeschwindigkeit gänzlich verloren gegangen ist. Wir haben hier eine ähnliche Erscheinung wie bei dem Kaolinversuch und möchten auch diesen Befund so deuten, daß eben außer dem Fibrinogen noch andere Plasmabestandteile auf die Senkung der Blutkörperchen wirken.

Hiernach führten wir noch einen Versuch bei 60° C aus, kamen da aber zu einem ganz anderen Resultat als *Linzenmeyer* (14). Unsere Versuchsanordnung war die gleiche wie in den voraufgegangenen Versuchen. Das von den Blutkörperchen durch Zentrifugieren getrennte Citratplasma wurde auf eine halbe Stunde in ein Wasserbad von 60° C gebracht und danach wieder auf Zimmertemperatur abgekühlt und mit gewaschenen Blutkörperchen im Verhältnis von 3 : 2 versetzt. Das Ergebnis war folgendes:

*Tabelle XV.*

| Zeit | Kaninchenplasma | | Plasma operierten Hundes | | Plasma normalen Hundes | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | vor | nach | vor | nach | vor | nach |
| | Erwärmung 60° C | | Erwärmung 60° C | | Erwärmung 60° C | |
| $^1/_2$ Std. | 3 mm | 1 mm | 8 mm | 3 mm | 2 mm | 4 mm |
| 1 „ | 4 „ | 1 „ | 11 „ | 9 „ | 4 „ | 9 „ |
| 2 „ | 5 „ | 3 „ | 14 „ | 12 „ | 8 „ | 12 „ |
| 3 „ | 6 „ | 5 „ | 15 „ | 14 „ | 10 „ | 14 „ |
| 4 „ | 7 „ | 6 „ | 16 „ | 15 „ | 10 „ | 15 „ |
| Fg. | 250 | 0 | 250 | 0 | 125 | 0 |

Bei dem Kaninchenplasma sehen wir zwar eine Abnahme der Senkungsgeschwindigkeit, doch ist dieselbe keineswegs so groß, wie eigentlich nach dem gänzlichen Fehlen des Fibrinogens zu erwarten wäre. Noch mehr gilt das für den Versuch mit Plasma vom operierten Hunde; hier ist die Abnahme in der Senkungsgeschwindigkeit noch geringer, obwohl die Fibrinogenmenge gleich 0 ist. Im Gegensatz dazu konnten wir im Plasma des normalen Hundes nicht nur keine Verzögerung, sondern sogar eine Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit nach dem Erwärmen auf 60° C konstatieren, trotzdem sich hier gleichfalls kein Fibrinogen mehr nachweisen ließ. Diesen Versuch haben wir des öfteren wiederholt stets mit gleichem Resultat, ganz gleichgültig, ob wir Hunde- oder Kaninchenplasma verwandten. Eine Erklärung für dieses paradoxe Verhalten zu geben, ist sehr schwer. Vielleicht liegen die Verhältnisse hier so, daß infolge der Hitze zunächst das Fibrinogen zerstört wird und dann unter dem weiteren Einfluß der Wärme Teile des veränderten Fibrinogens wieder in Lösung gehen und so auf die Senkung der Blutkörperchen beschleunigend wirken. Diese Erklärung setzt allerdings voraus, daß das in Lösung gegangene veränderte Fibrinogen besonders intensiv die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen fördert.

Neben den Hitzeversuchen haben wir auch den Einfluß der Kälte auf die Sedimentation untersucht und das Plasma auf 24 und 48 Stunden in einen gut gekühlten Eisschrank gestellt. Danach wurde es herausgenommen, mit Blutkörperchen in dem üblichen Verhältnis gemischt und auf sein Sedimentierungsvermögen geprüft. In der Mehrzahl fand ich übereinstimmend mit den Versuchen von *Fahraeus*, *de Haan* und *Linzenmeyer* eine deutliche Verzögerung. Es kamen aber auch Fälle vor, bei denen die Senkungsgeschwindigkeit trotz der langen Abkühlung sich gar nicht geändert hatte. Gleichzeitig wurde jedesmal die Fibrinogenmenge quantitativ bestimmt. Das Resultat ist aus Tabelle XVI ersichtlich.

*Tabelle XVI.*

| Zeit | 24 Stunden im Eisschrank | | | | 48 Stunden im Eisschrank | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Plasma op. Kaninch. | | Plasma oper. Hundes | | Plasma op. Kaninch. | | Plasma oper. Hundes | |
| | vor | nach | vor | nach | vor | nach | vor | nach |
| $^1/_2$ Std. | 5 mm | 1 mm | 10 mm | 10 mm | 5 mm | 1 mm | 10 mm | 4 mm |
| 1 „ | 11 „ | 2 „ | 19 „ | 18 „ | 11 „ | 1 „ | 19 „ | 6 „ |
| 2 „ | 17 „ | 4 „ | 24 „ | 24 „ | 17 „ | 2 „ | 24 „ | 10 „ |
| 3 „ | 19 „ | 6 „ | 26 „ | 26 „ | 19 „ | 2 „ | 26 „ | 13 „ |
| 4 „ | 19 „ | 8 „ | 27 „ | 28 „ | 19 „ | 3 „ | 27 „ | 15 „ |
| Fg. | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |

Wir sehen also in drei Fällen eine deutliche Abnahme in der Schnelligkeit der Senkung, nur in einem Falle keine Veränderung gegenüber dem Verhalten im nicht vorbehandelten Plasma. Und was das Fibrinogen anbetrifft, so haben wir stets die gleiche Menge nach wie vor der Abkühlung in allen vier Versuchen. Danach muß man annehmen, daß neben dem Fibrinogen von ausschlaggebender Bedeutung für die Sedimentation die physikalische Beschaffenheit des Plasmas auf die Senkungsgeschwindigkeit sein muß. Auf diesen Punkt hat ganz besonders *Oettingen* (8) hingewiesen, und er meint, daß aller Wahrscheinlichkeit nach die Temperaturerniedrigung eine Zunahme der Viskosität bedingt und diese Viskositätssteigerung ein Hindernis für die Blutkörperchensenkung darstellt.

## V.

Um dem Wesen von der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen näherzukommen, hat man auch Untersuchungen am Gravidenplasma über dessen Oberflächenspannung angestellt und sein Verhalten verglichen mit dem von Nabelschnurplasma. So fanden *Sachs* und *v. Oettingen* (15) mittels des *Traube*schen Stalagmometers, daß das Nabelschnurplasma in der Regel durch eine niedrige, das Schwangerenplasma meist durch eine hohe Tropfenzahl ausgezeichnet ist, sie fanden ferner, daß das Gravidenplasma bei Temperaturverminderung eine erhebliche Abnahme der Tropfenzahl zeigte und daß damit auch eine Abnahme der Senkungsgeschwindigkeit einhergeht.

Wir haben unser Augenmerk gleichfalls auf diesen Punkt bei unseren operierten Tieren gerichtet und sind zunächst zu ganz ähnlichen Resultaten gekommen.

Wir verwandten zu unseren Messungen nicht das Stalagmometer, sondern das Viskostalagmometer von *Traube*, bestimmten also nicht die Tropfenzahl, sondern die Tropfengröße der verschiedenen Plasmaarten. Die Versuchsanordnung war durch den Plan gegeben: es wurde zunächst beim normalen Tiere mehrmals Tropfengröße im Citratplasma und gleichzeitig Senkungsgeschwindigkeit bestimmt, sodann dem Tiere in Narkose der Pankreasgang unterbunden und danach jeden zweiten Tag etwa dieselben Bestimmungen vorgenommen. Ich führe als Beleg je einen Versuch am Kaninchen und am Hunde an:

*Tabelle XVII.* (Kaninchen.)

| Zeit | Vor der Operation | Nach der Operation 2. Tag | 3. Tag | 5. Tag | 7. Tag | 9. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1/2 Std. | ± | 4 mm | 4 mm | 3 mm | 1 mm | 1 mm |
| 1 „ | 1 mm | 9 „ | 12 „ | 6 „ | 2 „ | 2 „ |
| 2 „ | 2 „ | 15 „ | 17 „ | 14 „ | 4 „ | 3 „ |
| 3 „ | 3 „ | 17 „ | 19 „ | 18 „ | 6 „ | 4 „ |
| 4 „ | 7 „ | 22 „ | 24 „ | 23 „ | 20 „ | 19 „ |
| Tropfengröße | 125 | 122 | 118 | 118 | 120 | 120 |

*Tabelle XVIII.* (Hund.)

| Zeit | Vor der Operation | Nach der Operation 2. Tag | 3. Tag | 5. Tag | 7. Tag | 9. Tag | 10. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1/2 Std. | 1 mm | 2 mm | 3 mm | 4 mm | 2 mm | 1 mm | 1 mm |
| 1 „ | 2 „ | 6 „ | 8 „ | 9 „ | 7 „ | 4 „ | 3 „ |
| 2 „ | 6 „ | 13 „ | 13 „ | 14 „ | 13 „ | 8 „ | 7 „ |
| 3 „ | 8 „ | 16 „ | 15 „ | 16 „ | 15 „ | 10 „ | 8 „ |
| 4 „ | 9 „ | 17 „ | 17 „ | 17 „ | 17 „ | 12 „ | 10 „ |
| Tropfengröße | 126 | 121 | 120 | 121 | 123 | 122 | 122 |

Aus beiden Versuchen geht deutlich hervor, daß in dem Augenblick, wo die Senkungsgeschwindigkeit einen starken Zuwachs erfährt, die Tropfengröße deutlich abnimmt. Das stimmt durchaus mit den Beobachtungen von *Sachs* und *v. Oettingen* überein. Denn der Abnahme der Tropfengröße entspricht stets eine Zunahme der Tropfenzahl. Indes scheinen die Verhältnisse doch wohl nicht ganz so einfach zu liegen, wie man hiernach annehmen möchte. Denn wenn wir die Versuche genauer betrachten, so sehen wir die Zahlen für die Senkungsgeschwindigkeit sehr bald wieder zur Norm zurückkehren, während die Tropfengröße nach wie vor sehr niedrig bleibt und von dem Ausgangswert deutlich verschieden ist. Der Parallelismus zwischen Sedimentation und Oberflächenspannung ist also nur ein scheinbarer; das geht auch daraus hervor, daß, wenn man Plasma erwärmt, auch die Oberflächenspannung geringer, d. h. die Zahl der Tropfen größer wird, während gerade umgekehrt die Senkungsgeschwindigkeit abnimmt; nach *Sachs* und *v. Oettingen* (14) aber müßte die Sedimentation dann gerade zunehmen. Hierfür teile ich ein paar Versuche mit.

*Tabelle XIX.*

| Zeit | Plasma operierten Kaninchens: Vor Erwärmen | Nach Erwärmen auf 45° C | Nach Erwärmen auf 56° C | Plasma operierten Hundes: Vor Erwärmen | Nach Erwärmen auf 50° C | Nach Erwärmen auf 60° C |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 30 Min. | 2 mm | 1 mm | 1 mm | 8 mm | 3 mm | 3 mm |
| 1 Std. | 3 „ | 1 „ | 1 „ | 11 „ | 10 „ | 9 „ |
| 2 „ | 4 „ | 3 „ | 3 „ | 14 „ | 12 „ | 12 „ |
| 3 „ | 5 „ | 5 „ | 5 „ | 15 „ | 15 „ | 14 „ |
| 4 „ | 6 „ | 6 „ | 6 „ | 16 „ | 15 „ | 15 „ |
| Tropfengröße | 113 | 109 | 107 | 121 | 117 | 110 |

In dem gleichen Sinne fielen auch Versuche mit Kaolin und Aluminiumoxyd aus. Wenn man Citratplasma mit Kaolin schüttelt und nachher die Tropfengröße des so behandelten Plasmas bestimmt, so findet man eine starke Abnahme derselben, d. h. Zunahme der Tropfenzahl gegenüber dem nicht vorbehandelten Plasma. Mißt man gleichzeitig die Senkungsgeschwindigkeit dieses Plasmas, so hat sie, wie wir auch schon oben gezeigt haben, stark gelitten. Dasselbe kann man beobachten, wenn man Citratplasma mit Aluminiumoxyd schüttelt; auch hier Abnahme der Tropfengröße, also Zunahme der Tropfenzahl und trotzdem Verminderung der Senkungsgeschwindigkeit. Als Beleg führen wir nur drei Versuche an.

*Tabelle XX.*

| Zeit | Plasma operierten Kaninchens | | | | Schwangerenplasma | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | vor | nach | vor | nach | vor | nach |
| | Kaolin geschüttelt | | Aluminiumoxyd geschüttelt | | Kaolin geschüttelt | |
| 1/2 Std. | 2 mm | — | 2 mm | ± | 24 mm | 1 mm |
| 1 „ | 3 „ | — | 3 „ | ± | 30 „ | 2 „ |
| 2 „ | 4 „ | ± | 4 „ | 1 mm | 30 „ | 3 „ |
| 3 „ | 5 „ | ± | 5 „ | 1 „ | 30 „ | 4 „ |
| 4 „ | 6 „ | unklar | 6 „ | 2 „ | — | 5 „ |
| Tropfengröße | 113 | 108 | 113 | 107 | 127 | 111 |

Wir sehen also, daß die Oberflächenspannung kein sicherer Maßstab sein kann für die Senkungsgeschwindigkeit. Dazu liegen die Verhältnisse hier noch zu wenig geklärt. Es scheint bisweilen ja ein gewisser Zusammenhang zwischen beiden Phänomenen zu existieren, worin dieser aber besteht, entzieht sich einstweilen noch unserer Beurteilung.

## VI.

Neuerdings hat *Kürtens* (9) die Ansicht geäußert, daß die Senkungsgeschwindigkeit abhängig ist von dem Cholesterin-Lecithinquotienten des Plasmas, indem er feststellen konnte, daß Zusatz von Cholesterin die Senkungsgeschwindigkeit fördert, Zusatz von Lecithin zum Plasma die Senkungsgeschwindigkeit herabsetzt. Es fragt sich nun, ob dieser Befund, wie *Kürtens* (10) meint, in jedem Falle der ausschlaggebende Faktor ist, oder ob er nur für ganz bestimmte Fälle in Frage kommt. Die Möglichkeit, diese Frage experimentell zu entscheiden, war gegeben durch die von uns gewählte Versuchsanordnung der Pankreasunterbindung. Wenn das Pankreassekret sich in der Drüse staut und nach einiger Zeit dann durch die Vena pancratico-duodenalis in die Pfortader und von da in die Leber gelangt, so bewirkt es eine Ausschwemmung des Glykogens und eine solche von Eiweißbestandteilen, als welches wir das Fibrinogen kennengelernt haben. A priori war nun anzunehmen, daß sich dieser Einfluß des Pankreassekretes nicht bloß auf Kohlehydrate und Eiweißkörper beschränken würde, sondern daß auch

etwaige Fettbestandteile der Leber ausgeschwemmt würden, und man konnte daran denken, daß hier vielleicht die Anschauung von *Kürtens* (10) ihre experimentelle Bestätigung am Tiere finden würde, insofern, als das Blut nach der Unterbindung bezüglich seiner Fettbestandteile eine andere Zusammensetzung zeigen würde als vorher.

Wir haben deshalb das Blut von Kaninchen vor und nach der Unterbindung des Pankreasganges auf seinen Gehalt an Neutralfett, Gesamtcholesterin und Phosphatiden untersucht und geben in folgendem das Resultat von zwei Versuchen wieder.

Die Bestimmung des Neutralfettes und der Phosphatide geschah nach dem Mikroverfahren von *Bang*, die Bestimmung des Gesamtcholesterins wurde nach *Autenrieth* vorgenommen unter Verwendung von je 2 ccm Gesamtblut. Die mitgeteilten Zahlen sind Mittelwerte von Doppelanalysen.

*Versuch 1.*

Männliches Kaninchen, 2,75 kg, mehrmalige Blutentnahme aus der Ohrvene, Untersuchung auf Neutralfett, Phosphatide, Gesamtcholesterin. Danach Unterbindung des Pankreasganges in Äthernarkose. Heilung reaktionslos. Blutentnahme am zweiten, vierten und sechsten Tage nach der Operation. Das Resultat teile ich in Tabelle XXI mit. Die Zahlen vor der Operation sind Mittelwerte aus Untersuchungen an zwei verschiedenen Tagen.

*Tabelle XXI.*

| Zeit | Neutralfett | Phosphatide | Cholesterin |
|---|---|---|---|
| | | in 100 ccm Blut | |
| Vor der Operation . . . . . . . | 52 mg | 310 mg | 22 mg |
| 2. Tag nach der Operation . . . | 47 „ | 390 „ | 28 „ |
| 4. „ „ „ „ . . . | 60 „ | 356 „ | 24 „ |
| 6. „ „ „ „ . . . | 58 „ | 378 „ | 25,5 „ |

*Versuch 2.*

Männliches Kaninchen, 2,5 kg. Untersuchung des Blutes vor der Operation an zwei verschiedenen Tagen. Unterbindung des Pankreasganges in Äthernarkose, normaler Verlauf der Heilung. Blutentnahme am zweiten, vierten und sechsten Tage nach der Operation.

*Tabelle XXII.*

| Zeit | Neutralfett | Phosphatide | Cholesterin |
|---|---|---|---|
| | | in 100 ccm Blut | |
| Vor der Operation . . . . . . . | 61 mg | 382 mg | 34 mg |
| 2. Tag nach der Operation . . . | 79 „ | 410 „ | 28 „ |
| 4. „ „ „ „ . . . | 88 „ | 450 „ | 24,5 „ |
| 6. „ „ „ „ . . . | 95,5 „ | 485 „ | 29,5 „ |

Aus beiden Versuchen geht übereinstimmend hervor, daß die Unterbindung des Pankreasganges an der Zusammensetzung des Blutes in bezug auf seine Fettbestandteile nichts Wesentliches ändert.

Wir sehen wohl in beiden Fällen die Werte für Neutralfett und für Phosphatide etwas ansteigen, aber der Cholesteringehalt zeigt keine nennenswerte Veränderung. *Kürtens* (9) macht aber gerade die Vermehrung des Cholesteringehaltes verantwortlich für die gesteigerte Senkungsgeschwindigkeit und behauptet, daß Lecithin die Sedimentation hemmt. Wenn man in unseren Versuchen von einer Vermehrung sprechen kann, so nur von einer solchen der Phosphatide, nicht aber des Cholesterins. Und doch führt die Unterbindung des Pankreasganges stets zu einer vermehrten Senkungsgeschwindigkeit. Für den vorliegenden Fall also trifft *Kürtens* Behauptung keinesfalls zu.

## VII.

Die Erklärung für diese Tatsache, daß nach Unterbindung des Pankreasganges beim Tiere das Blut bezüglich seines Fibrinogengehaltes und seiner Sedimentation eine starke Veränderung zeigt, stützt sich auf die Annahme, daß hierbei die Beteiligung der Leber eine große Rolle spielt. Wenn diese Annahme richtig war, so dürften subkutane sowohl wie intravenöse Einspritzungen von Pankreatinlösungen diesen Effekt nicht haben.

Wir prüften das in mehreren Fällen am Kaninchen in der Weise nach, daß wir vorher bei den Tieren die Senkungsgeschwindigkeit, den Fibrinogengehalt und die Tropfengröße des Plasmas bestimmten und nach der Injektion in der gleichen Weise das Plasma untersuchten. Als Pankreatinlösung verwandten wir eine 4proz. Lösung eines sehr stark wirksamen Präparates. Von diesem wurden 5 ccm subkutan und 3 ccm intravenös injiziert. Wir begnügen uns mit der Mitteilung von je einem Versuch.

*Tabelle XXIII.*

| Zeit | Subkutane Injektion | | Intravenöse Injektion | |
|---|---|---|---|---|
| | vor | nach | vor | nach |
| 1/2 Std. | 1 mm | 1 mm | ± | 1 mm |
| 1 „ | 2 „ | 2 „ | 1 mm | 2 „ |
| 2 „ | 3 „ | 4 „ | 2 „ | 3 „ |
| 3 „ | 4 „ | 5 „ | 3 „ | 4 „ |
| Fg. | 125 | 125 | 125 | 125 |
| Tropfengröße | 120 | 110 | 111 | 116 |

Wir sehen hier weder nach der subkutanen noch nach der intravenösen Injektion eine Änderung in den Senkungszahlen. Dementsprechend sind

auch die Fibrinogenwerte unverändert geblieben; die Zahlen für die Tropfengröße dagegen lassen nach der Injektion eine deutliche Abnahme erkennen. Auch hier sehen wir wieder, worauf wir oben bereits hingewiesen haben, daß zwischen Oberflächenspannung und Senkungsgeschwindigkeit keine Beziehungen zu bestehen brauchen.

Die gleichen Versuche führten wir auch mit einer 5proz. Caseinlösung aus, die wir uns in der Weise hergestellt hatten, daß wir 5 g Casein (*Hammarsten*) in 20 ccm n/10 NaOH durch Erhitzen lösten, den Überschuß von Alkali mit n/10 HCl beseitigten und mit Wasser auf 100 ccm auffüllten unter Ergänzung des noch für die physiologische Konzentration fehlenden Kochsalzes. Von dieser Lösung wurden 5,0 ccm subkutan und 3 ccm intravenös den Tieren eingespritzt. Das Resultat war hier das gleiche wie bei den Versuchen mit Pankreatin: keine wesentliche Beeinflussung der Senkungsgeschwindigkeit, dementsprechend keine Vermehrung des Fibrinogengehaltes, dagegen eine deutliche Abnahme der Oberflächenspannung.

Im Anschluß hieran haben wir noch, da sich uns Gelegenheit dazu bot, mehrere Kaninchen unter verschiedenen pathologischen Bedingungen untersucht und auch im schwangeren Zustande. Das Resultat von je einem Falle geben wir in Tabelle XXIV wieder.

*Tabelle XXIV.*

| Zeit | Trombotischer Lungen- und Nierenabszeß | Entercocolitis | Subkutaner Abszeß | Trächtiges Kaninchen |
|---|---|---|---|---|
| $^1/_2$ Std. | 12 mm | 5 mm | 6 mm | 1 mm |
| 1 „ | 19 „ | 12 „ | 10 „ | 2 „ |
| 2 „ | 26 „ | 27 „ | 15 „ | 3 „ |
| 3 „ | 29 „ | 28 „ | 18 „ | 4 „ |
| Fg. | < 250 | > 250 | 250 | 125 |
| Tropfengröße | 103 | 111 | 110 | 122 |

In sämtlichen pathologischen Fällen sehen wir eine äußerst starke Beschleunigung der Sedimentation und damit einhergehend eine deutliche Vermehrung des Fibrinogens. Auch die Tropfengröße ist gegenüber der Norm deutlich verändert. Während im Durchschnitt für normales Kaninchencitratplasma der mit unserem Viskostalagmometer gemessene Wert meist zwischen 120 bis 122 schwankt, haben wir hier Werte von 103, 111, 110, also überall eine starke Abnahme der Oberflächenspannung.

Im Gegensatz zum Menschen sehen wir nun beim schwangeren Kaninchen nicht die geringste Änderung in der Senkungsgeschwindigkeit. Wir hatten Gelegenheit, drei gravide Tiere zu beobachten und haben in allen Fällen in den letzten zwei Wochen vor dem Werfen, und auch unmittelbar nachher mehrmals die Sedimentation, den Fibrinogengehalt und die Oberflächenspannung bestimmt und stets normale Werte gefunden. Nun wissen wir, daß auch beim Menschen allerdings selten Fälle vorkommen, bei denen in der Gravidität eine vermehrte Senkungsgeschwindigkeit nicht zu beobachten ist. Vielleicht ist dieser Zustand beim Kaninchen auch nur eine Ausnahme und vielleicht hat der Zufall hier eine Rolle gespielt, daß wir gerade solche Tiere zur Beobachtung bekommen haben. Darüber könnte nur die Untersuchung einer großen Zahl von graviden Tieren Auskunft geben.

## Zusammenfassung.

1. Unterbindung des Pankreasausführungsganges beim Kaninchen und beim Hunde führt zu einer starken Vermehrung des Fibrinogens und gleichzeitig zu einer starken Beschleunigung der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen. Mit der allmählichen Abnahme des Fibrinogens geht parallel die Senkungsgeschwindigkeit zurück.

2. Zusatz von schon sehr kleinen Mengen normalen fibrinogenarmen Plasmas zu fibrinogenreichem Plasma bewirken eine starke Verzögerung der Sedimentation, während umgekehrt schon Zusatz von sehr kleinen Mengen fibrinogenreichen Plasmas zu normalem Plasma die Senkungsgeschwindigkeit deutlich verstärkt.

3. Ungewaschene Blutkörperchen eines normalen Tieres zum Plasma eines operierten Tieres zugesetzt, zeigen dieselbe Senkungsgeschwindigkeit wie die gewaschenen Blutkörperchen des operierten Tieres; werden sie aber vorher gewaschen, so ist trotz des stark wirksamen Plasmas die Sedimentation sehr stark verzögert.

4. Gut wirksames Plasma eines operierten Tieres verliert, mit Kaolin geschüttelt, den größten Teil seiner Wirkung auf die Sedimentation, und ebenso wirkt das positiv geladene Aluminiumoxyd.

5. Erwärmen bei 50° schwächt die Wirkung eines vorher stark wirksamen Plasmas erheblich, während Erwärmen bei 60° nur ganz wenig die Plasmawirkung beeinträchtigt, in einzelnen Fällen sogar fördert.

6. Längeres Abkühlen setzt die Wirkung des Plasmas deutlich herab, obwohl die Fibrinogenmenge unverändert bleibt.

7. Nach Gangunterbindung nimmt die Oberflächenspannung des Plasmas ab, während die Senkungsgeschwindigkeit zunimmt. Dieser Parallelismus trifft aber nicht für alle Fälle zu; denn Erwärmen von Plasma, Schütteln mit Kaolin und Fasertonerde setzen gleichfalls die Oberflächenspannung herab, trotzdem nimmt die Sedimentation ab.

8. Unterbindung des Pankreasganges beim Kaninchen ist ohne Einfluß auf den Cholesteringehalt des Plasmas, gleichwohl führt sie zu einer enormen Steigerung der Senkungsgeschwindigkeit.

9. Injektionen von Pankreatin und Caseinlösungen bleiben beim Kaninchen ohne Effekt auf die Senkungsgeschwindigkeit und auf den Fibrinogengehalt.

10. An drei schwangeren Kaninchen konnte keine erhöhte Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen und keine Fibrinogenvermehrung konstatiert werden.

Die Arbeit ist zum Teil aus Mitteln bestritten, die wir der *Hojimi-Hoshi*-Stiftung verdanken.

## Literatur.

1) *Hunter*, Versuch über das Blut, Entzündung usw. Leipzig 1797. — 2) *Müller*, Handbuch der Physiologie des Menschen. Koblenz 1835. — 3) *Daby*, Physiological and anat. rescardes. London 1839. — 4) *Nasse*, Senkungsgeschwindigkeit des Blutes. Arch. f. Gynäkol. **10**, 1876. — 5) *Fahraeus*, Acta med. Scandin. **55**, 1, 1921. — 6) *Höber* und *Mond*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 49. — 7) *Kanai*, nach *Höber*, ebendaselbst. 8) *v. Oettingen*, diese Zeitschr. **118**, 67, 1921. — 9) *Starlinger*, diese Zeitschr. **114**, 129, 1921. — 10) *Kürtens*, Pflügers Arch. **185**, 248, 1920. — 11) *Musa*, Klin. Wochenschr. 1923, Nr. 34. — 12) *Wohlgemuth*, ebendaselbst 1917, Nr. 4; 1913, Nr. 8. — 13) *Derselbe*, Grundriß der Fermentmethoden, 1913. — 14) *Linzenmeyer*, Arch. f. Gynäkol. **118**, H. 3, 1920. — 15) *Sachs* und *v. Oettingen*, Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 12.

# Der Fettstoffwechsel bei der Avitaminose.

IV. Mitteilung.

**Über den Gaswechsel avitaminöser Ratten im nüchternen Zustande, während der Verdauung und nach Adrenalininjektionen.**

Von

**K. Asada** (Kioto, Japan).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des pathologischen Instituts und der II. medizinischen Klinik der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 16. Oktober 1923.)*

Mit 4 Abbildungen im Text.

Im Jahre 1913 haben *Caspari* und *Moszkowski* (1) die ersten Gaswechselversuche an experimentell erzeugter Beriberi des Menschen mitgeteilt.

Es handelt sich in dieser Arbeit um einen Versuch, den *Moszkowski* an sich selbst machte, und bei dem er 230 Tage sich vorwiegend mit geschliffenem Reis ernährte. Von diesen 230 Versuchstagen waren die ersten und die letzten 10 Tage von einem exakten Stoffwechselversuch eingenommen worden. Das Körpergewicht sank während des Versuchs ziemlich kontinuierlich, und der Grundumsatz, der ja in erster Linie abhängig von der Körperoberfläche ist, die ihrerseits wieder eine Funktion des Körpergewichts darstellt, gestaltete sich folgendermaßen: Gleich nach Beginn des Versuchs sank der $O_2$-Verbrauch pro Kilogramm und Minute von 3,06 bis 3,28 ccm in der Vorperiode auf 2,69 ccm und hielt sich bis zum 58. Versuchstage mit gewissen Schwankungen auf dieser Höhe. Dann trat eine Steigerung auf 3,11, ja 3,38 ccm auf. Die Gaswechseluntersuchungen wurden bei nüchternem Individuum und bei körperlicher Ruhe morgens vorgenommen. Es ergibt sich daraus, daß zunächst entsprechend der Abnahme des Körpergewichts der Grundumsatz sich verminderte und in einem späteren Stadium der Krankheit trotz fortschreitender Körpergewichtsabnahme eine Steigerung erfuhr. Wenn auch bei diesem Versuche das Bild der Avitaminose zeitweise durch Erscheinungen echten Hungers oder einfacher Unterernährung wegen der Appetitlosigkeit und der Darmstörungen der Versuchsperson getrübt war, so haben doch die Autoren den Wahrscheinlichkeitsbeweis geführt, daß auch ohne Intervention dieser Begleiterscheinungen der Eiweißbestand und vor allem der Fettbestand des Körpers durch die Art der Ernährung angegriffen wurde.

Im Jahre 1916 machte *Ramoino* (2) Mitteilungen über den herabgesetzten Sauerstoffverbrauch bei Avitaminose. Dann folgen im Jahre 1920 zu dem gleichen Gegenstande und mit gleichem Ergebnis die Arbeiten von *Abderhalden* (3), von *Jansen* und *Mangkoewinite* (4), *Ciaccio* (5), *Freudenberg* und *Gyoergy* (6), im Jahre 1921 folgen *Hess* (7), *Racchiuso* (8), im Jahre 1922 *Tsuji* (9), *Groebbels* (10), *Fleisch* (11), *Magne* und *Simonet* (12), 1923 endlich haben die japanischen Autoren *Y. Kinoshita* (13), *S. Okada* (13), *T. Kato* (13), *Shinoda* und *Kanasawa* (14), wie *Asada* (15) ihre Arbeiten über den Gaswechsel bei Avitaminose veröffentlicht.

Aus den bisher genannten Arbeiten geht hervor, daß Gewebszellen eines avitaminösen Körpers einen herabgesetzten $O_2$-Verbrauch aufweisen, und daß Zulage vitaminhaltiger Substanz zu einem solchen Zellbrei den $O_2$-Verbrauch steigert. Ferner stimmen alle Autoren darin überein, daß in einem gewissen Stadium der avitaminösen Erkrankung der $O_2$-Verbrauch des Körpers herabgesetzt ist. Nur *Groebbels* (10) hat gefunden, daß in den allerersten Tagen der Avitaminose, in denen auch häufig trotz der avitaminösen Ernährung noch eine Körpergewichtszunahme beobachtet wird, der $O_2$-Verbrauch gesteigert ist, aber dann kontinuierlich sinkt. Im Gegensatz hierzu stellten *Caspari* und *Moszkowski* (1) fest, daß der $O_2$-Verbrauch von Anfang an bei der Avitaminose sich progressiv vermindert, aber in einem späteren Stadium der Krankheit, in dem die avitaminösen Störungen klinisch deutlich ausgesprochen waren, wieder ansteigt trotz weiter abnehmenden Körpergewichts. Eine Erhöhung des $O_2$-Verbrauchs bei der Avitaminose fanden auch *Anderson* und *Kulp* (16), wie *Gerstenberger* und *Burham* (17) bei ihren Versuchen.

Wenn man alle diese Beobachtungen über den Gaswechsel bei Avitaminose richtig würdigen will, so muß man daran erinnern, daß die Avitaminose sehr häufig kompliziert ist durch echten Hunger infolge ungenügender Nahrungsaufnahme oder ungenügender Nahrungsresorption. Dann muß natürlich, wie im gewöhnlichen Hungerzustande, der $O_2$-Verbrauch proportional der Körpergewichtsabnahme sinken [*Loewy* (18)].

Wenn man im Beginn der Avitaminose eine Steigerung des $O_2$-Verbrauchs sieht [*Groebbels* (10)], so spricht gewiß viel dafür, daß wir es hier mit der ersten avitaminösen Erscheinung zu tun haben, die zu einer Zeit auftritt, in der die Avitaminose noch nicht durch Hunger infolge mangelhafter Resorption kompliziert ist, und bei der im gesteigerten Gaswechsel der erhöhte Umsatz, besonders an Kohlehydrat zum Ausdruck kommt. In diesem Initialstadium besteht Hypoglykämie und Hypolipämie [*Collazo* (19), *Shinoda* (20)]. Es ist dieser gesteigerte Umsatz gewissermaßen die erste Reaktion des Körpers auf das Nachlassen der Vitaminzufuhr. Dann aber kehrt sich das Bild um. Der $O_2$-Verbrauch geht zurück und wird schließlich subnormal. Da nun *Gyoergy* (6) und *Shinoda* und *Kanasawa* (14) feststellen konnten, daß Zellen — *Shinoda* und *Kanasawa* arbeiteten mit Leberzellen normal ernährter Hunde — nach Zusatz von vitaminhaltigem Material einen gesteigerten $O_2$-Verbrauch zeigen, würde es verständlich sein, daß der Körper bei der Vitaminverarmung ebenfalls einen herabgesetzten Gaswechsel aufweist. Diese Herabsetzung des Gaswechsels in den mittleren und späteren Stadien der Avitaminose ist ja auch die Regel, wie wir sahen. Beobachtungen am Blutchemismus unter verschiedenen Versuchsbedingungen während dieser Perioden der Avitaminose machen es offenbar, daß die Zellen nur zögernd das angebotene Nährmaterial aufnehmen. In der zweiten Periode der Avitaminose findet man Hyper-

glykämie und Hyperlipämie [*Collazo* (19, 21)]. Trotz der gesteigerten Stoffbewegung in den Körpersäften verläuft offenbar die Stoffpassage durch die Zellen verlangsamt ab. Das könnte aber wohl eine Herabsetzung im $O_2$-Verbrauch zur Folge haben.

Indessen besteht doch noch eine Schwierigkeit bei der theoretischen Ausdeutung des gesamten Symptomenkomplexes. Wenn die Körpergewichtsabnahme ein primäres avitaminöses Symptom ist, die Resorptionsstörung aber ein sekundäres, infolge der avitaminösen Störung des resorbierenden Darmwandgewebes, dann müßte die Körpergewichtsabnahme auftreten können bei normaler Resorption der Nahrung. Dann aber würde nicht nur die Nahrung schließlich quantitativ verbrannt, sondern es würde auch noch das Körperbestandmaterial in vergrößertem Umfange eingeschmolzen, und dieser Mehrumsatz würde bei subnormalem $O_2$-Verbrauch erfolgen. Das aber ist ein offensichtlicher Widerspruch, der der Klärung bedarf.

Dieser Widerspruch tritt uns ganz besonders deutlich aus dem *Tsuji*schen (9) Stoffwechselversuch an einem vitaminfrei ernährten Hunde entgegen, da hier Körpergewichtsabnahme und Herabsetzung des $O_2$-Verbrauchs auftreten, ohne daß eine Resorptionsstörung offensichtlich würde.

Das Problem, um das es sich hier handelt, ist von *Bickel* (22) und *Tsuji* (9) in ganz klarer Weise ausgesprochen worden. Es gipfelt in folgendem Satze: Wenn bei der Avitaminose die für den Normalzustand des Tieres als kalorisch suffizient erkannte Nahrung in normalem Umfange resorbiert wird, und wenn trotzdem das Körpergewicht sinkt, wenn also diese ganze Nahrung + Körperbestandsubstanz umgesetzt wird, dann muß entweder der totale $O_2$-Verbrauch des Tieres pro Tag gesteigert sein oder die Nahrung + Körpersubstanz muß mit einem $O_2$-Verbrauch umgesetzt werden, der geringer ist, als er unter physiologischen Verhältnissen statthat. Dann kann die organische Substanz nicht bis zu den physiologischen Endprodukten umgeformt werden, oder aber es war demnach eine Resorptionsstörung vorhanden, die der Beobachtung entgangen ist.

Um diese Frage weiter zu klären, war es notwendig, zunächst einmal festzustellen, ob die Herabsetzung des $O_2$-Verbrauchs bei der Avitaminose nur in nüchternem Zustande, oder ob sie auch während der Aufnahme und Resorption der Nahrung vorhanden ist. Denn es wäre immerhin denkbar, daß während des Aktes der Nahrungsaufnahme und Resorption eine explosivartige Zerstörung der organischen Substanz stattfände, während in nüchternem Zustande die Oxydation herabgesetzt sein könnte, d. h. dem jeweiligen Körpergewicht entsprechend wäre. Diese Versuche habe ich an Ratten ausgeführt. Ich benutze hier die Gelegenheit, um Herrn Dr. *Arnoldi* für die Hilfe zu danken, die er mir bei meinen Gaswechseluntersuchungen hat zuteil werden lassen. Ich habe bei normalen Ratten den Gaswechsel in nüchternem Zustande und außerdem während der Aufnahme und Resorption einer Testnahrung untersucht. Als Testnahrung wählte ich eine bestimmte Menge vitaminfreien Specks. Darauf habe ich die Tiere mit vitaminfreiem Futter ernährt und allmählich avitaminös gemacht. Während der Avitaminose wurde ebenfalls der Gaswechsel

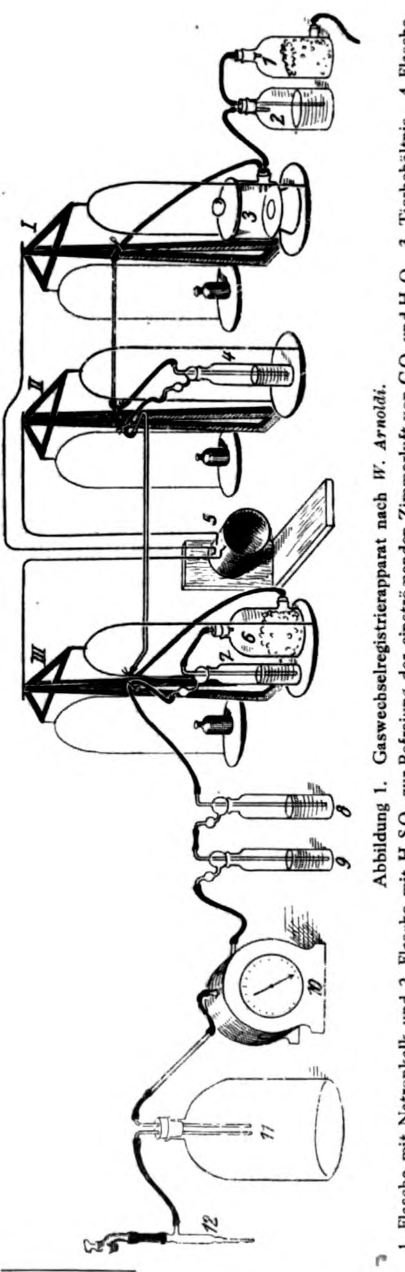



Abbildung 1. Gaswechselregistrierapparat nach *W. Arnoldi.*

1. Flasche mit Natronkalk und 2. Flasche mit $H_2SO_4$ zur Befreiung der einströmenden Zimmerluft von $CO_2$ und $H_2O$. 3. Tierbehältnis. 4. Flasche mit $H_2SO_4$ zur Aufnahme des von dem Tiere abgegebenen Wassers. 5. Registriertrommel. 6. Flasche mit Natronkalk zur Aufnahme der ausgeatmeten $CO_2$. 7. Flasche mit $H_2SO_4$ zur Aufnahme des bei der Bindung der $CO_2$ an Natronkalk gebildeten Wassers. 8. Flasche mit Barytwasser und 9. Flasche mit $H_2SO_4$ zur Prüfung, ob alle $CO_2$ absorbiert wurde (8 und 9 kann meist weggelassen werden, wenn der Natronkalk genügend frisch ist). 10. Gasuhr. 11. Pufferflasche. 12. Wasserstrahlpumpe. — Berechnung: $[CO_2 + H_2O]$ — Gewichtsabnahme des Tieres und des Tierbehältnisses $= O_2$.

in nüchternem Zustande und bei der Fütterung mit der Testnahrung bestimmt. Alsdann habe ich die Tiere wieder mit vitaminhaltigem Futter ernährt und abermals die gleichen Gaswechselversuche in nüchternem Zustande und bei der Fütterung mit der Testnahrung gemacht. Außerdem wurden die Versuche noch in anderer Weise variiert, wie aus den Protokollen hervorgeht.

Aus den Gaswechseluntersuchungen ergibt sich, daß bei Hypo- und Avitaminose auch nach Aufnahme von Nahrung und nicht nur, wie bekannt, in der Ruhe nüchtern der Stoffumsatz und daher die Sauerstoffaufnahme im Vergleich zum Normaltier immer weiter absinken. Anhaltspunkte für eine explosionsartige Verbrennung nach Nahrungsaufnahme lassen sich nicht finden.

## Experimenteller Teil.

*Methodik*[1]): Als Versuchstiere dienten junge Ratten. Zur Untersuchung des Gaswechsels benutzte ich das von

[1]) Vgl. *Arnoldi* und *Asada*, Demonstration in der Physiologischen Gesellschaft Berlin, Sitzung im Juli 1923.

*Arnoldi* beschriebene Registrierverfahren, dem als Methode der Gaswechselbestimmung das *Haldanesche Prinzip* zugrunde liegt. Es handelt sich um eine gewichtsanalytische Untersuchung der $CO_2$- und Wasserabgabe sowie des Gewichtsverlustes des Tieres mit Hilfe von Wagen (vgl. Abb. 1).

Die benutzte *Haldane*sche Versuchsanordnung ist derart, daß ein Luftstrom durch eine Reihe von *Woulff*schen Flaschen und durch das Behältnis für das Tier geleitet wird. Die Außenluft tritt in Flasche 1 ein und wird durch Natronkalk ihres $CO_2$-, in Flasche 2 durch $H_2SO_4$ ihres Wassergehaltes entledigt. Nunmehr strömt die Luft durch ein geeignetes Behältnis, in welchem sich das Versuchstier befindet. Die durchströmende Luft nimmt $H_2O$ und $CO_2$ auf, welche von dem Tiere abgegeben werden. Das *Wasser* wird in der folgenden *Woulff*schen Flasche 3 in konzentrierter $H_2SO_4$, die $CO_2$ in Flasche 4 (Natronkalk) und 5 (konzentrierte $H_2SO_4$ zur Aufnahme des sich neuerdings bildenden Wasserdampfes) aufgenommen. Weiter gelangt die Luft in eine mit Bariumhydroxydlösung gefüllte Waschflasche und nochmals in $H_2SO_4$. Letztere zeigt an, ob die $CO_2$- und $H_2O$-Absorption eine vollkommene war. Ein Gasmesser ist hinter die Gaswaschflasche eingeschaltet, um das in der Zeiteinheit durchströmende Luftquantum abmessen zu können, endlich kommt eine etwa 5 Liter haltende Pufferflasche, die dafür sorgt, daß der mittels Wasserstrahlluftpumpe angesogene Luftstrom gleichmäßig durch das System strömt. Während des Versuchs nimmt das Behältnis mit dem Versuchstier an Gewicht ab, die Flaschen für die Wasser- und die $CO_2$-Absorption zu, die $CO_2$ wird ebenso wie die Wasserabgabe direkt durch Wägung bestimmt. Die Summe der Gewichtszunahme für $CO_2$ und $H_2O$, abzüglich des Gewichtsverlustes des Tieres, entspricht dem $O_2$-Verbrauch unter der Voraussetzung, daß die vom Organismus aufgenommene $O_2$-Menge gleich der $O_2$-Menge ist, die als $CO_2$ und $H_2O$ den Körper verläßt. Praktisch genommen dürfte die letztgenannte Voraussetzung zutreffen, wie aus zahlreichen Arbeiten hervorgeht, in denen die *Haldane*sche Versuchsanordnung verwandt wurde. Die Gewichtsänderungen der Flaschen 1 und 2, sowie die der Barytwasserflasche können vernachlässigt werden. Auf drei durch Gegengewichte ausgeglichene Wagen wird das Behältnis mit dem Tiere, die Flasche 3, und gemeinsam auf die Schale der dritten Wage die Flaschen 4 und 5 aufgesetzt. Die im Laufe des Versuchs allmählich auftretende Gewichtsveränderung wird durch einen von der Mitte des Wagenbalkens ausgehenden, fest angelöteten und gebogenen Draht durch einen beweglichen Zeiger auf gerußtes Papier übertragen. Der Papierstreifen wird durch eine Trommel mit Uhrwerk langsam und gleichmäßig weiterbewegt. Man gewinnt auf diese Weise drei Kurven, die den Gewichtsänderungen entsprechen (vgl. Abb. 2). Das System muß derart abgedichtet sein, daß die Luft nur durch die freie Öffnung der Flasche 1 eintritt. Zwischen den Wagen strömt die Luft durch Glasröhren, von denen aus Schläuche zu den verschiedenen Flaschen abgehen. Eine einfache Schlauchverbindung von Wage zu Wage veranlaßt, daß die Bewegung der einen Wage den anderen mitgeteilt wird. Auch so sind die Schläuche ein gewisses Hemmnis für die ungehinderte Bewegung. Dieser Fehler wird wesentlich vermindert dadurch, daß alle Flaschen und das Tierbehältnis stets möglichst in genau der gleichen Weise aufgestellt bleiben, ferner daß empirisch durch Auflegen von Gewichten der Ausschlag einer jeden Wage unter den gegebenen Verhältnissen graphisch festgelegt und bei der folgenden Berechnung berücksichtigt wird.

Die Versuche können so lange (meist viele Stunden) durchgeführt werden, solange noch ein Ausschlag der Wagen möglich ist. Aus den erhaltenen Kurven ersieht man ohne weiteres, ob die $CO_2$- und Wasserabgabe sowie der Gewichtsverlust des Tieres gleichmäßig erfolgt oder nicht. In ersterem Falle stellen die Kurven gerade Linien dar, im anderen Falle sind sie bogenförmig oder Wellenlinien. Zur Berechnung des Gaswechsels stellt man durch mehrere Messungen zunächst graphisch genau fest, welchen Weg die rotierende Trommel in einer oder in zwei Stunden zurücklegt. Die Zeiger der Wagen zeichnen hierbei, falls kein Versuch am Tiere vorgenommen wird, eine Gerade auf, deren Länge man auf jeder Kurve abmißt. Auf Millimeterpapier trägt man dann für jede Wage die Ausschläge auf, die durch eine Zunahme des Gewichtes hervorgerufen, und die für den gesamten Ausschlag durch Auflegen von je 0,5 g, 1,0 g, 1,5 g usw. ausgemessen werden. Etwa vorhandene Abweichungen in dem Ausmaß des Ausschlages für die Gewichtseinheit bei verschiedenen Stellungen des Wagebalkens und damit verbundene Fehler der Messung werden durch

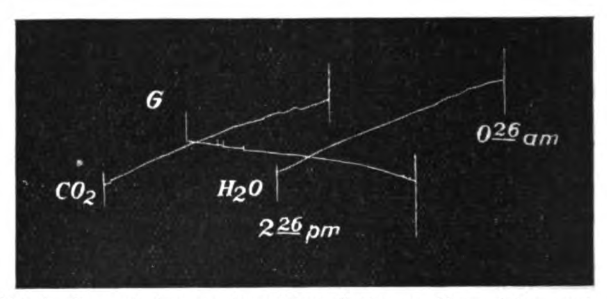



Abb. 2. Gaswechseluntersuchung einer Ratte von 64 g, *nüchtern* untersucht. (Die Zahl an der rechten Seite der $H_2O$-Kurve soll heißen $10^{26}$ a m, nicht $0^{26}$ a m.)

diese Eichung verhindert, da wir genau festlegen können, wieviel Ausschlag z. B. 0,5 g bei verschiedener Stellung des Balkens jeder einzelnen Wage ergeben. Zur Messung wird zunächst der Zweistundenabstand in der Wagerechten aufgetragen und dann von hier aus der Höhenunterschied der aufgenommenen Kurve bestimmt. Dieser im rechten Winkel zur erstgenannten Wagerechten gemessene Höhenunterschied entspricht dem Ausschlag der Wage. Die entsprechenden Gewichtsunterschiede werden von der Eichungskurve abgelesen. Die Messung der Gewichtsänderungen der Flaschen kann ferner auch direkt durch Auflegen von Gewichten (so viel, bis die Ausgangsstellung des Wagebalkens wieder erreicht ist) gemessen werden. Es läßt sich recht gut, auch bei sehr kleinen Tieren, wie etwa einer Maus, mit einem Körpergewicht von z. B. 15 bis 20 g die Änderung des Gaswechsels in den verschiedenen Stunden verfolgen, wie auch die gesamte $CO_2$-Abgabe und $O_2$-Aufnahme in der Zeiteinheit bestimmen. Abb. 2 gibt einen Versuch wieder, wobei der Gaswechsel einer nüchternen Ratte 4 Stunden lang untersucht wurde. Abb. 3 zeigt den Gaswechsel derselben Ratte während und nach dem Fressen von avitaminösem Brot und Speck, 4 Stunden lang untersucht.

Zunächst mußte geprüft werden, ob *ohne* Fütterung infolge des länger dauernden Hungers während der Zeit der Gaswechseluntersuchung eine

nennenswerte Änderung der $O_2$-Aufnahme stattfände. Eine solche Änderung ist, wie aus Versuch 1 hervorgeht, nicht nachzuweisen. Dagegen fiel es auf, daß häufige Untersuchungen in kurzen Zwischenräumen, z. B. täglich oder jeden zweiten Tag, offenbar von einer Nachwirkung gefolgt waren. Das Körpergewicht nahm ab, und ebenso wurde die $O_2$-Aufnahme beeinflußt. So fanden sich als Zunahme des $O_2$-Verbrauchs nach Nahrungsaufnahme an drei aufeinander folgenden Tagen pro Stunde die Werte: $+ 0{,}91$, $+ 0{,}585$, $\pm 0$ g $O_2$. Wurde dann einige Tage bis zur nächsten Untersuchung gewartet, so war nicht nur das Körpergewicht wieder nahezu bis zu seinem

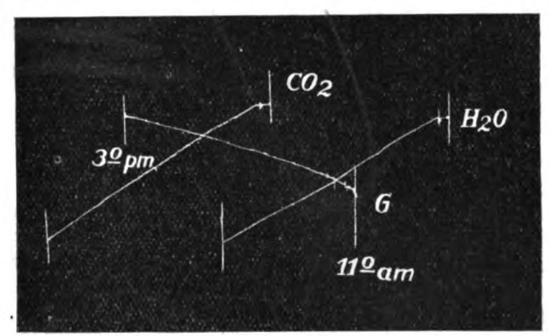



Abb. 3. Gaswechseluntersuchung der gleichen Ratte wie in Abb. 2, *während der Fütterung* mit avitaminösem Brot und Speck.

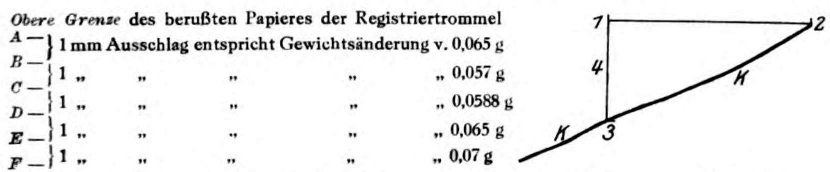



**Abbildung 4.** Beispiel für die empirische Eichung einer der benutzten Wagen, sowie die Berechnung einer Kurve dieser Wage bei Verwendung des Gaswechselregistrierapparates von *W. Arnoldi*. *A* bis *F* umfaßt den gesamten Ausschlag des Balkens einer Wage (für jede Wage besonders zu bestimmen). Der Zwischenraum zwischen je zwei Buchstaben entspricht dem Ausschlag, den das Auflegen eines Gewichtstückes von 1 g verursacht. Die Ausschläge durch die gleichen Gewichte sind in den verschiedenen Lagen des Wagebalkens verschieden. In der Wiedergabe sind die Abstände zwischen *A*, *B*, *C*, *D*, *E*, im Vergleich zu nebenstehender Kurve zu klein geraten.
*Berechnung einer Kurve*: 1. Abmessen der Wegstrecke der Registriertrommel für die Zeit von z. B. 2 Stunden: Strecke 1—2. 2. Ziehen einer Linie im rechten Winkel zur Geraden 1—2 Gerade 1—4—3. Der Abstand 1—4—3 wird auf Grund nebenstehender empirischer Eichung berechnet: in Höhe 1—4 (gemessen von der oberen Grenze des Papiers der Registriertrommel) entspricht 1 mm Wagebalkenausschlag = 0,065 g und 5 mm entsprechen 0,325 g; in Höhe 4—3 entspricht 1 mm Ausschlag = 0,057 g und 5 mm entsprechen 0,285 g. Der Abstand 1—4—3 entspricht demnach einer Gewichtsveränderung von 0,325 + 0,285 = 0,600 g.

früheren Werte angestiegen, sondern auch die der Nahrungsaufnahme folgende Vermehrung des $O_2$-Verbrauchs. In dem angeführten Beispiel stellte sich die Zunahme des $O_2$-Verbrauchs nach Nahrungsaufnahme nach neuntägiger Pause wieder auf den Wert $+ 0{,}505$ g $O_2$ pro Stunde. Das Gewicht, das von 78 g auf 60 herabgesunken war, stieg ebenfalls in dieser Zwischenzeit wieder auf 73 g. Man wird daraus schließen können, daß ein zu häufiger und langer Aufenthalt des Tieres in einer vollständig wasserfreien Luft, wie sie in dem Untersuchungsapparat herrscht, zu einer Änderung des Körpergewichts Veranlassung gibt, die durch eine relativ

zu hohe Wasserabgabe hervorgerufen wird. Es ließe sich dieser Fehler dadurch umgehen, daß man in das Behältnis für das Tier Wasser hineinbringt und den Gewichtsverlust dieses Wassers besonders bestimmt. Die zweite Folge einer zu häufigen Untersuchung ist eine Verringerung der Wirkung aufgenommener Nahrungsstoffe auf den $O_2$-Verbrauch.

Es lassen sich daher nur die Versuche für die in Frage stehenden Abweichungen der $O_2$-Aufnahme verwerten, die in nicht zu nahe einander folgenden Zeitabständen vorgenommen wurden und wobei die Ratten nicht unter den Folgen zu häufiger und langer Versuche litten.

Bei Zufuhr beliebig aufgenommener Mengen von avitaminösem Brot und Speck tritt eine durch die Nahrung hervorgerufene Vermehrung der $O_2$-Aufnahme von etwa 0,5 bis 1 g $O_2$ pro Stunde auf, solange deutliche Anzeichen einer Avitaminose oder auch Hypovitaminose noch fehlen. Ist dagegen bereits der Vitaminmangel bemerkbar, so wird die Vermehrung der $O_2$-Aufnahme nach Nahrungszufuhr auf etwa 0,25 g $O_2$ pro Stunde in der Hypovitaminose und um etwa 0,1 bis 0,18 g $O_2$ pro Stunde in der Avitaminose herabgesetzt. Verfüttert man nun weiter Vitamine, dann kommt es allmählich wieder zu höheren $O_2$-Werten. Anfangs wurden bei der Fütterung reichliche Mengen avitaminösen Brotes und Specks gegeben. Die Tiere konnten nach Belieben fressen. Später bekamen sie dagegen nur 0,5 g Speck (abgewogen und dann in das Behältnis für das Tier gelegt). Diese geringere Quantität mußte auch eine geringere Erhöhung des $O_2$-Verbrauchs hervorrufen. Die Zunahme des $O_2$-Verbrauchs nach dem Fressen von 0,5 g Speck wird viel größer, sobald das Tier aus dem Zustande der Hypovitaminose in den der normalen Vitaminose überführt ist. Diese Zunahme ist nach drei Wochen langer normaler Ernährung bei Ratte 3 sehr beträchtlich, wenn auch nicht ganz so groß wie vor der Periode mit vitaminfreier Kost. Bei Ratte 4 bleibt die nach wenigen Tagen normaler Kost beobachtete Erhöhung des $O_2$-Verbrauchs drei Wochen später auf dem gleichen Werte stehen. Die Ratten waren jung und befanden sich noch in der Wachstumsperiode. Nach dem Einsetzen vitaminfreier Kost sinkt das Gewicht bei zwei Ratten deutlich ab, bei einer bleibt es unverändert, bei der vierten nimmt es wenig zu. Drei Wochen normale Ernährung veranlaßt dann bei den in dieser Zeit noch lebenden Ratten 3 und 4 einen starken Gewichtsanstieg, um etwa 25 Proz. Die Erholung der Ratte 3 ist, nach dem Verhalten der $O_2$-Aufnahme beurteilt, eine bessere als die der Ratte 4.

Zum Schluß möchte ich noch über Untersuchungen berichten, die die abweichende Wirkung von Suprarenininjektionen bei avitaminösen Tieren gegenüber Normaltieren darlegen (vgl. folgende Tabelle).

Bei avitaminösen Tieren verursachen die Suprarenininjektionen eine stärkere $O_2$-Aufnahme in der Folge als bei Normaltieren. Zugleich wird nach den Untersuchungen von *Collazo* (19, 21) der Blutzuckergehalt viel weniger gesteigert, und es werden die Fettsubstanzen weniger vermindert als bei Normaltieren. Nehmen wir an, daß die gleichen Verhältnisse auch für die Ratte zutreffen, so würde bei hypo- und avitaminösen Tieren bei Suprarenininjektionen der Zuckerabfluß aus dem Blute gesteigert, ohne daß ein gleich großer Nachstrom an Zucker aus der Leber kompensierend oder hyperkompensierend einsetzt. Diese gesteigerte Zuckerbewegung findet in Richtung von Blut zum Gewebe (nicht oder in geringem Grade zur Niere) statt, so daß der Stoffumsatz und entsprechend die $O_2$-Aufnahme erheblich zunehmen. So ließ es sich begreifen, daß Suprarenin bei avita-

| Ratte Nr. | Datum | Nüchtern $O_2$-Aufnahme in g pro Std. | Nahrungszufuhr | Zunahme der $O_2$-Aufnahme nach dem Essen im Vergleich zur Nüchternheit in g pro Std. | Körpergewicht in g | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 24. VI. 1923 | 0,595 | Ohne Fütterung | — 0,035 | 60 | Avitaminose |
| 2 | 18. VI. | 0,675 | Brot und Speck, avitaminös | + 0,10 | 65 | „ |
| | 20. VI. | 0,61 | „ „ „ „ | + 0,18 | 62 | „ |
| 3 | 8. V. | 0,74 | „ „ „ „ | + 0,55 | — | Zunehmende Hypovitaminose |
| | 13. V. | 0,435 | „ „ „ „ | + 0,555 | — | Dasselbe |
| | 17. V. | 0,285 | „ „ „ „ | + 0,502 | 51 | „ |
| | 22. V. | 0,315 | „ „ „ „ | + 0,415 | 56 | „ |
| | 15. V. | 0,503 | „ „ „ „ | + 0,355 | 55 | „ |
| | 21. V. | 0,475 | „ „ „ „ | + 0,455 | 62 | „ |
| | 27. V. | 0,61 | 0,5 g Speck | + 0,06 | 62 | „ |
| | 9. VII. | 0,325 | 0,5 g „ | + 0,065 | 67 | Vom 6. VII. 1923 *vitaminhalt.* Kost |
| | 17. VII. | 0,405 | 0,5 g „ | + 0,11 | 74 | Dasselbe |
| | 6. VIII. | 0,21 | 0,5 g „ | + 0,28 | 103 | „ |
| | 8. VIII. | 0,453 | Brot und Speck, avitaminös | + 0,27 | 103,5 | „ |
| 4 | 4. V. | 0,765 | „ „ „ „ | + 0,91 | 78 | Zunehmende Hypovitaminose |
| | 16. V. | 0,615 | „ „ „ „ | + 0,505 | 73 | Dasselbe |
| | 24. V. | 0,44 | „ „ „ „ | + 0,425 | 67 | „ |
| | 28. VI. | 0,42 | 0,5 g Speck | + 0,095 | 75 | „ |
| | 12 VII. | 0,325 | 0,5 g „ | + 0,085 | 84 | Vom 6. VII. 1923 *vitaminhalt.* Kost |
| | 14. VII. | 0,455 | 0,5 g „ | + 0,11 | 84 | Dasselbe |
| | 18. VII. | 0,35 | 0,5 g „ | + 0,165 | 86 | „ |
| | 7. VIII. | 0,335 | 0,5 g „ | + 0,18 | 113 | „ |
| | 8. VIII. | 0,345 | Brot und Speck, avitaminös | + 0,13 | 113 | „ |
| 5 | 10. V. | 0,615 | „ „ „ „ | + 0,265 | 40 | Hypovitaminose |
| | 18. V. | 0,40 | „ „ „ „ | + 0,235 | 37 | „ |
| | 23. V. | 0,43 | „ „ „ „ | + 0,375 | 35 | „ |
| | | | | Zunahme des $O_2$-Verbrauchs | | |
| 1 | | 0,645 | 0,1 ccm Suprarenin subkutan | + 0,085 | 67 | Normaltiere |
| 2 | | 0,85 | 0,2 „ „ „ | — 0,14 | 67 | „ |
| 3 | | 0,79 | 0,2 „ „ „ | + 0,045 | 83 | „ |
| 4 | | 0,545 | 0,3 „ „ „ | + 0,07 | 125 | „ |
| 1a | | 0,615 | 0,1 „ „ „ | + 0,08 | 67 | Avitamin. Ratte |
| 2a | | 0,715 | 0,2 „ „ „ | + 0,19 | 66 | „ |
| 3a | | 0,504 | 0,2 „ „ „ | + 0,205 | 76 | „ |
| 4a | | 0,35 | 0,3 „ „ „ | + 0,205 | 98 | „ |
| 1—4 im Durchschnitt | | 0,66 | nach Suprarenininjektion | + 0,033*) | | im Durchschnitt |
| 1a-4a i. Durchschnitt | | 0,58 | nach Suprarenininjektion | + 0,085 | | im Durchschnitt |

*) Ohne Ratte 2 gerechnet.

minösen Tieren den $O_2$-Verbrauch stärker erhöht als bei Normaltieren, bei denen es in einem Falle sogar zu einer Herabsetzung des $O_2$-Verbrauchs kam. Bei Normaltieren steigt der Blutzucker deutlich nach den Injektionen an, d. h. dem vermehrten Zuckerzufluß zum Blute entspricht kein ebenso großer Zuckerabfluß aus dem Blute in die Gewebe. Die Fettbewegung ist (vgl. oben) von der Bewegung des Zuckers stets abhängig.

Nach dieser Auffassung greifen das Suprarenin und die von ihm ausgelösten Folgezustände bei avitaminösen Tieren ganz anders in die Stoffbewegung ein als bei Normaltieren. Demgemäß ist dann auch der Stoffumsatz und der $O_2$-Verbrauch ein anderer.

Die Einschmelzung von Körpermaterial bei Avitaminose wird nicht, wie man annehmen könnte, von einer erhöhten $O_2$-Aufnahme begleitet. Die $O_2$-Aufnahme ist abhängig von der Menge an Brennstoffen, die in der Zeiteinheit den Geweben zufließen, und diese Menge nimmt mit fortschreitender Entleerung der Glykogenspeicher und Verhinderung der Glykogenspeicherung zunehmend ab. Das ist eine für viele, mit Einbuße von Körpersubstanz einhergehende Krankheitszustände prinzipiell bedeutungsvolle Feststellung. Bei der Avitaminose kommt es demnach unter anderem zu einer Änderung in der Stoffbewegung, insbesondere zu einer primären Änderung des Zuckertransports und zu einer sekundären des Fetttransports. *Die Verminderung der $O_2$-Aufnahme im Grundumsatz und nach Nahrungsaufnahmen wird infolge eines immer schlechter werdenden Zustroms von Brennstoffen aus den Depots durch das Blut in die Gewebe und einer dementsprechenden Verminderung des Stoffumsatzes hervorgerufen.*

## Schluß.

Überblicken wir zum Schluß noch einmal die Ergebnisse der experimentellen Untersuchung bei Avitaminose, vor allem die aus diesem Institute in den letzten Jahren hervorgegangenen, und setzen sie zu dem Befunde dieser Arbeit in Beziehung: Die Glykogenbildung ist zwar möglich, vielleicht sogar beschleunigt, das Glykogenspeicherungsvermögen wird dagegen stark herabgesetzt, denn das Glykogen zerfällt viel rascher als beim Normaltier [*Rubino* und *Collazo* (23)]. Der Blutzuckergehalt sinkt anfangs etwas ab und steigt später zu einer Zeit steil an, in der auch die Fettsubstanzen des Blutes, die vordem eher etwas vermindert sind, stark zunehmen. Während die Erhöhung des Blutzuckergehalts bis zum Tode unter geringen Schwankungen bestehen bleibt, sinkt der Blutfettgehalt einige Zeit vor dem letalen Ende fast bis zur Norm wieder ab, sicherlich infolge der Erschöpfung der Fettreserven des Organismus.

Man kann die sich abspielenden Vorgänge sich etwa so zurechtlegen[1]: „Nach einem kurzen Initialstadium, in dem eine Hypoglykämie bei vermindertem Blutfettgehalt, mitunter Körpergewichtszunahme, und nach *Groebbels* (10) eine Steigerung des $O_2$-Verbrauchs auftreten, schwinden die Glykogenbestände rasch ziemlich vollständig. Das Blut wird leicht hyperglykämisch und hyperlipämisch.

[1]) Bezüglich der Beziehungen zwischen den Bewegungen der Stoffe (Stofftransport) im Organismus und dem Stoffumsatz, sowie in der Auffassung der Befunde bei Avitaminose folge ich den Anschauungen von *W. Arnoldi* (mündliche Mitteilung; vgl. ferner Zeitschr. f. klin. Med. **94**, 268, 1922; Berl. med. Wochenschr. 1922, Nr. 8; Münch. med. Wochenschr. 1923, S. 702; Klin. Wochenschr. 1922, S. 2082.

Jetzt setzt auch die zunehmende Verminderung des $O_2$-Verbrauchs im nüchternen Zustande, sowie die von mir in den oben geschilderten Versuchen festgestellte Herabsetzung der Oxydationszunahme nach Nahrungsaufnahme ein. Diese $O_2$-Verminderung läßt sich vorläufig nur durch eine Einschränkung der Stoffbewegung aus dem Blute in die Zellen und des Stoffumsatzes in ihnen erklären. In einer dritten Periode der fortschreitenden Vitaminverarmung treten Störungen der Stoffbewegung und des Stoffumsatzes in verstärktem Grade auf. Der Blutzucker und das Blutfett nehmen hochgradig zu, und zwar der Blutzucker, weil neben dem Nahrungszucker als Zuckerquelle die Fette und bei der aufgetretenen negativen N-Bilanz auch das Eiweiß für das verschwundene Glykogen vikariierend eingreifen. Zucker kann auf diese Weise bis zuletzt noch verhältnismäßig reichlich gebildet werden, wenn auch kein zwingender Grund vorliegt, eine vermehrte Zuckerbildung anzunehmen. Der starke Blutzuckeranstieg würde vielmehr dadurch schon völlig verständlich, wenn vorausgesetzt werden kann, daß die Gewebszellen weniger als zuvor imstande sind, den angebotenen Zucker aufzunehmen. Sicherlich verbrennen sie weniger Zucker, sonst könnte es nicht zu einer weiteren Herabsetzung des Stoffumsatzes, zu einer verminderten Wärmebildung und schließlich nach dem Versagen der physikalischen und chemischen Wärmeregulation zu einem Absinken der Körpertemperatur kommen, das ja gegen das Ende ebenfalls auftritt. Ganz ähnliche Gründe gelten für die Fettsubstanzen. Sie sind in der zweiten Periode im Blute so stark vermehrt, weil die Fettwanderung aus den Depots insbesondere in der Richtung zu der Leber fortbesteht, aber die Fettzersetzung in der Leber immer mehr nachläßt. Auch hier ist es bei weiterem Zustrom aus den Fettdepots die Stauung an der Hauptumsatzstätte, die die Blutwerte für das Fett hochtreibt, während der geringe Umsatz in der Leber bei fortbestehender Aufnahme von Fett in dieses Organ die Leberverfettung, die ich in den Spätstadien der Avitaminose nachwies, herbeiführt. Wäre die Fettzersetzung in der Leber gegen die Norm erhöht, müßte die $O_2$-Aufnahme und Wärmebildung ebenfalls gesteigert und nicht herabgesetzt sein. Gegen das Ende sinkt der Blutfettgehalt ab, da ein genügender Nachstrom aus den entleerten Depots nicht mehr möglich ist.

Weshalb sinken nun Umsatz, $O_2$-Verbrauch, Wärmebildung und Temperatur herab, obwohl das avitaminöse Tier seine Nahrung wie ein Normaltier zu sich nimmt und angeblich auch resorbiert, wenn keine sekundäre Magendarmstörung die Krankheit erschwert? Weshalb kommt es zu einem Aufbrauch des Glykogens, zu einem starken Defizit im Gesamtfettgehalt des Tieres und zum Einschmelzen von Körpereiweiß mit negativer N-Bilanz?“

Diese Fragen, die im Brennpunkt des ganzen Vitaminproblems stehen, werden durch meine vorliegende Untersuchung noch nicht abschließend beantwortet, aber es werden die Möglichkeiten für ihre Beantwortung eingeengt. Denn eine Steigerung des $O_2$-Verbrauchs — das wissen wir jetzt — besteht weder im nüchternen Zustande der Tiere noch auch während der Verdauungsperiode. Immer ist der $O_2$-Verbrauch bei dem avitaminösen Tiere im Vergleich zum Normaltier im fortgeschrittenen Stadium der Krankheit herabgesetzt. So bleibt nur übrig, in erster Linie die *Resorptionsvorgänge* im Darm bei dieser Krankheit nochmals zu studieren, obschon der *Tsuji*sche (9) Versuch in einwandfreier Weise dargetan hat, daß weder die gesamte Trockenkotmenge noch auch der N-Gehalt des Kotes während der Avitaminose vermehrt zu sein braucht, und sein Augenmerk auf den Kohlenstoffgehalt des Harns zu lenken und überhaupt der Frage näherzutreten, ob nicht, wie *Tsuji* (9) meint, ein Umsatz von Fett und Kohlehydrat im Körper mit vermindertem physiologischen $O_2$-Verbrauch möglich ist, in dem die Nahrung nicht bis zu dem physiologischen Endprodukte verbrannt wird.

**Literatur.**

1) *Caspari* und *Moszkowski*, Weiteres zur Beriberi-Frage. Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 33, S. 1515. — 2) *P. Ramoino*, Arch. ital. biol. **65**, 1, 1916; Pathologica **7**, 101, 1919. — 3) *Abderhalden* und Mitarbeiter, Pflügers Arch. **182**, 1920; **187**, 1921; **188**, 1921; **191**, 1921. — 4) *Jansen* und *Mangkoewinite*, Medel v. d. Burg. gen. Dienst. Nid. Indie. 1920, Nr. 31, S. 51. — 5) *Ciaccio*, Ann. di clin. med. 1920, 10. Jahrg., Heft 1. — 6) *Freudenberg* und *Gyoergy*, Münch. med. Wochenschr. **87**, 1920; *Gyoergy*, Jahrb. f. Kinderheilk. **93/94**, 1921. — 7) *Hess*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **117**, 1921; *Hess* und *Messerle*, ebendaselbst **119**, 1922. — 8) *Racchiuso*, Ann. d. clin. med. 1921, 11. Jahrg., Heft 3. — 9) *Tsuji*, diese Zeitschr. **129**, 1922. — 10) *Groebbels*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **122**, 1922; Klin. Wochenschr. **1**, Nr. 31, 1922. — 11) *Fleisch*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **95**, 1922. — 12) *Magne* et *Simonet*, Bull. de la soc. de chim. biol. **4**, Nr. 8, 1922. — 13) Nach mündlicher Mitteilung in japanischer Zeitschrift erschienen. — 14) *Shinoda* und *Kanasawa*, Zellatmung bei Avitaminose. Vortrag in der Japanischen biochemischen Gesellschaft. Tokio, April 1923. — 15) *Asada*, Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Zellsalze usw. Diese Zeitschr. 1923. — 16) *Anderson* und *Kulp*, Journ. of biol. Chem. **52**, Nr. 1, 1922. — 17) *Gerstenberger* und *Burham*, ebendaselbst. — 18) *A. Loewy*, Unterernährung, praktische Ergebnisse der gesamten Medizin **2**. — 19) *Collazo*, diese Zeitschr. **134**, 1922. — 20) *Shinoda*, nach mündlicher Mitteilung zitiert. — 21) *Collazo*, Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel bei Avitaminose. Diese Zeitschr. **134**, 140, 1922/23. — 22) *A. Bickel*, Klin. Wochenschr. 1922. — 23) *Rubino* und *Collazo*, **140**, 1923.

# Über die Cellase der Takadiastase.

Von

C. Neuberg und O. Rosenthal.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Es ist eine wunderbare Erscheinung, daß ein niederer Organismus, der Aspergillus oryzae, Fermente in einer Mannigfaltigkeit erzeugt, die den vielzelligen Lebewesen mit fein differenzierten Geweben fremd ist. Nicht weniger bemerkenswert ist es, daß der Pilz die von ihm hervorgebrachten Enzyme mit großer Leichtigkeit abgibt, so daß sie in dem technisch daraus gewonnenen Präparat, der Takadiastase, zugegen sind.

Nach Untersuchungen, die im hiesigen Institut in letzter Zeit ausgeführt worden sind, finden sich in der Rüstkammer von Fermenten, die in der Takadiastase vorhanden ist, außer den längst bekannten Agenzien verschiedene *Phosphatasen*[1]) und *Lecithase*[2]), namentlich aber das interessante Enzym *Sulfatase*[3]), das ätherschwefelsaure Salze zerlegt. Wir haben die Anwesenheit von zwei weiteren Fermenten festgestellt, von *Cellase* und *Inulase*. Über letztere wird demnächst Herr Dr. *Takahashi* nähere Angaben machen; wir berichten kurz über die *Cellase*.

Fügt man zu einer 1- bis 4proz. Lösung von Cellose (Cellobiose) das Ferment nebst Toluol, so wird das Disaccharid schnell hydrolysiert. Da die Cellose ein geringeres Drehungsvermögen besitzt als der aus ihr hervorgehende Traubenzucker, so kann man das Fortschreiten der biochemischen Spaltung durch polarimetrische Kontrolle verfolgen. Es ergab sich, daß man in etwa 120 Stunden eine vollständige Zerlegung erreichen kann.

Als *Beispiele* führen wir folgende Daten an:

2,0 g Cellose wurden unter Zugabe von 1 ccm Toluol in 50 ccm Wasser gelöst. Nach 24 Stunden wurden 2 g Takadiastase [japanisches

---

1) *S. Akamatsu*, diese Zeitschr. **142**, 184, 1923; *J. Noguchi*, ebendaselbst **143**, 190, 1923.

2) *S. Akamatsu*, ebendaselbst **142**, 186, 1923.

3) *C. Neuberg* und *K. Kurono*, ebendaselbst **140**, 295, 1923; *C. Neuberg* und *K. Linhardt*, ebendaselbst **142**, 191, 1923.

Präparat der Firma *Sankyo*[1])] hinzugefügt. Nach 10 Minuten langem Schütteln betrug die Ablenkung im Dezimeterrohr $+0{,}96^0$. Nach 24stündiger Aufbewahrung im Brutschrank bei $37^0$ war sie $+1{,}44^0$, nach 2 Tagen $+1{,}84^0$, nach 120 Stunden $+2{,}17^0$. Dieser Wert änderte sich bei weiterem Verweilen im Thermostaten nicht.

Zu den Drehungsbestimmungen ist folgendes zu bemerken. Aus der Takadiastase selbst ging schwach lävogyres Material in Lösung, dessen Drehung bei der Digestion schwächer wurde und sich der Null näherte. Da unsere Takadiastase, wie wir uns überzeugten, eiweißähnliche Verbindungen enthielt, dürfte dieses Verhalten auf einen proteolytischen Abbau der Proteinsubstanz zu beziehen sein. Da — vielleicht infolge des Gehaltes an einer Oxydase — die Takadiastaselösungen beim Stehen nachdunkelten, so war die direkte Polarisation auch nach blankem Filtrieren erschwert. Wir haben daher das von *Neuberg* in die Harnanalyse[2]) eingeführte Quecksilberacetat angewendet, das spiegelklare Flüssigkeiten liefert. Nach Ausfällung mit dem essigsauren Quecksilber wird in Lösung befindliches Metall durch Schwefelwasserstoff entfernt und das vom Quecksilbersulfid ablaufende wasserhelle Filtrat alsbald polarisiert, bevor durch Zersetzung des Schwefelwasserstoffs sich bildender Schwefel ausfällt. Die durch die Quecksilberacetatlösung bewirkte Verdünnung, die zwei Fünftel des ursprünglichen Volumens ausmachte, ist bei den angegebenen Drehungswerten in Rechnung gebracht.

Die Aufspaltung der Cellose zu Traubenzucker ließ sich auch leicht mit der Osazonprobe feststellen. 17 ccm eines Gemisches, die 1,3 g ursprünglich angewandter Cellobiose entsprachen, lieferten bei Behandlung mit einem kleinen Überschuß von Phenylhydrazinacetat 1,33 g d-Glucosazon, das nach dem Waschen mit Äther eine leuchtend hellgelbe Masse bildete und sich bei $204^0$ zersetzte.

0,1146 g Substanz[3]): 15,8 ccm N ($17^0$; 755 mm)

$C_{18}H_{22}N_4O_4$. Ber. N = 15,64; gef. N = 15,82 Proz.

Aus dem Filtrat des in der Hitze abgesaugten Glucosazons schied sich beim Erkalten und Stehenlassen innerhalb 24 Stunden nur eine minimale, nicht wägbare Menge bräunlicher Substanz ab. Cellosazon war darin nicht nachzuweisen.

Titration, Drehung sowie Gärvermögen bestätigten weiter das Vorliegen von Traubenzucker und die vollkommene fermentative Aufspaltung der Cellose.

---

[1]) Wir verdankten das Produkt der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Dr. *Kohmoto*.

[2]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **24**, 429, 1910.

[3]) Mit Pyridin usw. umkristallisiert nach *C. Neuberg*, Ber. **32**, 3384, 1899.

Die verwendete Probe von Takadiastase war mindestens ein Jahr alt, wahrscheinlich älter. Es wäre zu untersuchen, ob man nicht mit wesentlich geringeren Mengen von Enzym auskommt, wenn letzteres frisch bereitet ist.

Die Cellase ist bereits als vegetabilisches Ferment beobachtet, so von *E. Fischer* und *G. Zemplén*[1]) im käuflichen Emulsin. Im wässerigen Auszuge der Kefirkörner sowie von Schimmelpilzen haben es diese Autoren zunächst vermißt, später aber gefunden[2]), nachdem *G. Bertrand* und *M. Holderer*[3]) sowie *G. Bertrand* und *A. Compton*[4]) andere Bereitungsweisen gelehrt und *Bertrand* und *Holderer* (l. c.) die Anwesenheit von Cellase in verschiedenen pflanzlichen Organen, wie in Aprikosenkernen, Mandeln und im Gerstenkorn, dargetan hatten. Im *Preßsafte* von Aspergillus oryzae hatten *H. Pringsheim* und *G. Zemplén*[5]) die Cellase gesucht, aber nicht beobachten können. Es bleibe dahingestellt, ob das Ferment in den nach *Buchners* Verfahren bereiteten Preßsaft nicht übertritt, oder ob die von den Autoren innegehaltenen Züchtungsbedingungen nicht günstig gewählt worden waren.

Die unzweifelhafte Anwesenheit der Cellase in der Takadiastase scheint uns nach mehreren Richtungen hin Interesse zu bieten. Zunächst handelt es sich hier um das Vorkommen des Ferments in einem überaus bequem zugänglichen Produkte, das als Trockenpräparat vorliegt. Sodann ist das Ferment dieser Herkunft von recht erheblicher Wirkungsstärke. Zu dritt verdient vielleicht der Fundort der Cellase Beachtung; die Takadiastase ist nämlich ein Material, das hauptsächlich auf Stärke eingestellt ist und seiner amylolytischen Fähigkeiten halber fabriziert wird. Die Cellose, ein lösliches Derivat des Zellstoffes, wird gleich der löslichen Stärke abgebaut. Es liegt hier also der Fall vor, daß ein Organismus Enzyme produziert, die in der Reihe der beiden wichtigsten Polysaccharide, Stärke und Cellulose, angreifen.

---

[1]) *E. Fischer* und *G. Zemplén*, Ann. **365**, 1, 1909.

[2]) *Dieselben*, ebendaselbst **372**, 254, 1910.

[3]) *G. Bertrand* und *M. Holderer*, Chem. Centralbl. **1910**, I, 612, 1005, 1781; Ann. d. l'Inst. Pasteur **24**, 180, 1910.

[4]) *G. Bertrand* und *A. Compton*, Chem. Centralbl. **1910**, II, 1064; **1911**, I, 400; **1911**, II, 1042.

[5]) *H. Pringsheim* und *G. Zemplén*, H. **62**, 382, 1909.

## Berichtigung

zur Mitteilung von *Wl. Butkewitsch:* Über die Citronensäuregärung, diese Zeitschr. 142, 201.

Die Tabelle III muß richtig lauten:

*Tabelle III.*

| Kulturen mit $CaCO_3$ | *Asperg. niger* | *Citrom. glaber* |
|---|---|---|
| Pilzdeckengewicht (ohne Ca-Oxalat) . . . . g | 0,8340 | 0,7550 |
| Ca-Citrat . . . . . . . . . . . . . . . . . g | 0,1540 | 1,1740 |
| Sein Prozentgehalt an CaO . . . . . . . . . | — | 33,95 |
| Reaktion von *Denigès* . . . . . . . . . . . . | deutlich | |
| Ca-Oxalat . . . . . . . . . . . . . . . . . . | 0,1530 | 0 |
| CaO in der Kulturflüssigkeit . . . . . . . . g | 0,0370 | 0,0403 |
| Mit *Fehling*scher Lösung . . . . . . . . . . | deutliche Reduktion | |

# Zur Methodik der kolorimetrischen quantitativen Bestimmung des Cholesterins im Blutserum[1]).

Von

**Sophie Krastelewsky.**

(Aus der Abteilung für allgemeine Pathologie am Petersburger medizinischen Institut.)

*(Eingegangen am 3. Oktober 1923.)*

Unsere heutigen Kenntnisse der Pathologie des Cholesterinstoffwechsels beruhen hauptsächlich auf den experimentellen pathologophysiologischen Untersuchungen, die die wichtige Bedeutung des Cholesterins in der Pathologie des Stoffwechsels erwiesen haben.

Es ist ganz natürlich, daß die klinischen Untersuchungen der Cholesterindiathese beim Menschen jetzt lebhaftestes Interesse erregt haben.

Für diese Untersuchungen ist in erster Linie eine genügende klinische Methodik der quantitativen Bestimmung des Cholesterins im Blutserum notwendig, die uns über die näheren Umstände orientieren könnte.

Jedoch ist die heutige Methodik der Cholesterinbestimmung im Blutserum noch gar nicht befriedigend.

Die verschiedenen Modifikationen der jetzigen Methoden kann man im allgemeinen auch nicht als genügend bezeichnen.

Selbstverständlich ist es das Bestreben der Forscher, eine passendere Methode zu finden.

Es ist schwer, einen anderen, an Farbreaktionen ebenso reichen Stoff wie Cholesterin zu finden; infolgedessen liegt die kolorimetrische Methode der quantitativen Bestimmung des Cholesterins all diesen Methoden zugrunde.

Von allen Cholesterinreaktionen ist die *Liebermann-Burchardt*sche Reaktion, welche von verschiedenen Forschern zu diesem Zwecke gebraucht wurde, besonders charakteristisch.

*Grigaut* gelang es zu allererst, diese Reaktion zur kolorimetrischen Bestimmung der Quantität des Cholesterins im Blutserum anzuwenden

[1]) Vorgetragen auf dem allgemeinen russischen Kongreß der Pathologen zu Petersburg am 19. September 1923.

und damit die Anfänge der klinischen Untersuchungen dieser Diathese zu inaugurieren.

Diese Methode war aber ihrer Ungenauigkeit wegen ungenügend, dabei sehr kompliziert und zahlreicher Reaktive bedürftig.

Die *Autenrieth-Funck*sche Modifikation bestand darin, daß diese Autoren ihren eigenen Kolorimeter mit der patentierten grünen Lösung einführten.

Die Methodik wurde dadurch vereinfacht und weit verbreitet.

Bald aber merkte man die Unvollkommenheit auch dieser Methoden, die ebenso wie die *Grigaut*sche Methode oft Cholesterinfarbtöne des Blutserums, die den Farbtönen der entsprechenden Kolorimeter nicht ähnlich waren, erzeugten.

Andere Modifikationen, die diese Unvollständigkeit der Farbtöne zu beseitigen suchten, erwiesen sich ebenfalls als ungenügend.

Unterdessen vereinfachten *Weltmann* und *Fischl* die Untersuchung und fingen an, für die Cholesterinbestimmung die *Salkowski*sche Reaktion mit Chloroform und Schwefelsäure anzuwenden, und, um die Quantität des Cholesterins zu bestimmen, verglichen sie die Töne dieser Reaktion mit dem Glaskeile des *Fleischl*schen Hämometers.

Man bekam durch diese Reaktion mit dem Cholesterin des Blutserums rosa, lila, kirschrote und andere Töne.

Aber die erhaltenen Reaktionstöne entsprachen dem Glaskeile des *Fleischl*schen Hämometers durchaus nicht, und es war überhaupt schwer, sogar auf Grund der Chloroformschichtsättigung den approximativen Grad der Quantität des Cholesterins im Blutserum zu beurteilen.

Auch blieb es ganz unerklärt, welche Faktoren auf die Erscheinungen der verschiedenen Töne Einfluß hatten, und wovon diese oder andere Eigenschaften dieser Reaktion und auch der *Liebermann-Burchardt*schen Reaktion abhingen.

Unter Berücksichtigung des oben Erwähnten nahm ich mir vor, die Cholesterinfarbreaktion zu erforschen und die empirische Ursache der Reaktionseigenschaften festzustellen.

Man mußte dabei die zweckmäßigsten Extraktionsmethoden nachweisen, welche eine möglichst vollständige Cholesterinextraktion von gegebenen Stoffen garantieren würden, und eine brauchbare und genügende Methode für die Klinik auswählen.

Hier kann ich die Methodik meiner Untersuchungen nicht genau und ausführlich beschreiben.

Im allgemeinen besteht sie aus den vergleichenden quantitativen kolorimetrischen Bestimmungen der aus verschiedenen Organgeweben extrahierten Cholesterine.

Die erhaltenen Reaktionstöne und ihre Evolution wurden mit den Reaktionstönen des reinen *Merck*schen Cholesterins verglichen,

worauf in entsprechenden Reaktionen die Reaktionstöne mit den ausgewählten, ähnlichen, künstlichen Lösungen der verschiedensten chemischen Farben fixiert wurden.

Meine Untersuchungen wurden einerseits mit frischen Organen und dem Blutserum, andererseits mit den Extrakten derselben unternommen.

Das Cholesterin wurde mit verschiedenen Lösungsmitteln, wie Spiritus, Chloroform, Äther in verschiedenen Kombinationen und Verhältnissen, extrahiert.

Eine andere Reihe von Versuchen stellte ich mit der Trockensubstanz verschiedener Organe und des Blutserums an.

Um den Einfluß verschiedener Plasmabestandteile, wie Lecithin, Glucose, Globuline, Milchsäure, Harnstoffe, Harnsäure und Salze, auf die Tonveränderung der *Liebermann-Burchardt*schen und *Salkowski*schen Reaktion zu erklären, habe ich diese Reaktionen in verschiedenen Quantitätsverhältnissen mit allen diesen Stoffen durchgeführt.

Auf diesem Wege habe ich den Einfluß von Licht und Temperatur auf den Reaktionston ebenso wie den Einfluß der Reaktionsdauer auf die Erscheinung verschiedener Nuancen erforscht.

Alle meine Untersuchungen stellten fest, daß der reine Cholesterinton, sowohl für das reine *Merck*sche Cholesterin charakteristisch ist, wie auch für die biologischen, aus verschiedenen Geweben, darunter auch aus dem Blutserum extrahierten Cholesterine. Dieser Ton kann nur durch die Anwendung der *Salkowski*schen Reaktion erhalten werden unter der Bedingung, daß meine unten beschriebene Methode mit völligem Ausschluß von Wasser benutzt wird.

Der reine charakteristische Cholesteringrundton ist *orangegelb*, wobei seine Intensität gerade von der Quantität des Cholesterins abhängt.

In den Reaktionen, welche weniger als 1 mg Cholesterin enthalten, ist der Ton hellgelblich, indem er seine Grundnuance behält.

Chemische Plasmabestandteile beeinflussen in keiner sichtbaren Weise den Ton dieser Reaktion, was man von der *Liebermann-Burchardt*schen Reaktion nicht sagen kann.

In den Geweben enthaltenes, oder in die Reaktion künstlich eingeführtes Wasser verändert immer den Ton der Chloroformschicht: die gelben Töne gehen in Rosa, Lila und Kirschblau über.

Dieselben Erscheinungen beobachtet man bei der Entfärbung der Chloroformschicht infolge von Wasserabsorption aus der Luft oder einem Glasgefäß.

So habe ich festgestellt, daß man den orangegelben Ton der *Salkowski*schen Cholesterinreaktion nur bei Bearbeitung des Serums und anderer Gewebe unter völligem Ausschluß von Wasser erhält.

Dieser Ton hat die wichtigste Bedeutung bei der Beurteilung des Cholesteringehalts in Stoffen und Geweben.

Es ist von Wichtigkeit für die Reaktion, daß sie im Dunkeln und bei niedriger Temperatur stattfindet, was schon *Salkowski* und später *Weltmann* beobachtet hatten.

Die für die Reaktion erforderliche Temperatur darf nicht höher als $+ 4^0$ C sein, sonst tritt Entfärbung der Chloroformschicht ein. Licht hat auf die Veränderung der Reaktionstöne einen Einfluß.

Die Reaktion mit reinem Cholesterin dauert nicht mehr als 15 bis 20 Minuten; was die Reaktion mit Serum-Cholesterin oder dem aus verschiedenen Geweben extrahierten Cholesterin anbetrifft, so wird der Ton während 12 bis 18 Stunden erhalten.

Um die Quantität des Blutserums und des Gewebecholesterins zu bestimmen und zu vergleichen, habe ich einen Kolorimeter aus Farbenlösungen vorbereitet, der dem Cholesteringehalt in titrierten Lösungen von 1 dmg bis zu 1 dg entsprach.

Auf diese Weise habe ich eine Methode der quantitativen Bestimmung des Cholesterins im Blutserum festgestellt, welche den wissenschaftlichen und klinischen Bedürfnissen entspricht.

Um die Brauchbarkeit dieser Methode für die Bestimmung der Cholesterämiezustände zu beweisen, habe ich nach Herrn Prof. *Chalatows* bekannten Methoden bei Kaninchen Cholesterämie künstlich hervorgerufen und die Bestimmung des Cholesterins im Blutserum bei den in dieser Weise behandelten Kaninchen vorgenommen.

Die Methode wird auf folgende Weise angewendet:

Man nimmt aus der Ellenbogenvene 5 bis 10 ccm Blut, und nachdem man das Serum erhalten hat, nimmt man davon mit Hilfe einer graduierten Pipette 1 ccm und tröpfelt dasselbe in eine mit einem Glasstöpsel versehene, 50 ccm fassende breithalsige Flasche, in welche 5 ccm absoluten Alkohols vorher eingegossen werden.

Es bildet sich ein feinflockiges, staubiges Gemisch; dann schüttelt man das Gefäß leicht und stellt es in einen Thermostaten bei 55 bis $60^0$, bis zum vollständigen Verdampfen des Alkohols und bis zum völligen Austrocknen der Substanz: dazu braucht man gewöhnlich 12 bis 24 Stunden.

Eine niedrigere Temperatur würde hier nicht angebracht sein, denn ein Teil der trockenen Substanz bleibt an den Wänden der Flasche haften und würde die Genauigkeit der Reaktion beeinträchtigen.

Die trockene Substanz wird in einem gut getrockneten Porzellanmörser zerrieben und wieder in die Flasche zurückgeschüttet. Man gießt nun in die Flasche mittels einer Bürette 5 ccm Chloroform und fügt 15 bis 20 Minuten später dieselbe Quantität reiner Schwefelsäure hinzu. Die Luft in der Bürette mit Schwefelsäure soll wasserfrei sein.

Das Ganze wird während 1 bis 2 Minuten leicht geschüttelt, auf 6 bis 12 Stunden in einen dunklen Eiskasten gestellt. Nachher wird die Chloroformschicht in eine gut verkorkte Röhre gegossen und mit dem Kolorimeter verglichen.

Für den guten Erfolg der Reaktion ist eine gute Qualität der Schwefelsäure notwendig.

Aus den chemischen Analysen der zur Reaktion gebrauchten Schwefelsäuren habe ich gefunden, daß die geeignetste Schwefelsäure ein spezifisches Gewicht von 1,8388 haben muß $\left(D \cdot \frac{15^0}{4^0} = 1{,}8388\right)$, welches 99,9proz. wasserfreier Schwefelsäure entspricht.

Auf diese Weise darf der Säure nicht mehr als $^1/_{10}$ Proz. Wasser hinzugefügt werden.

Die Qualität der Schwefelsäure kann auch ohne chemische Analyse auf Grund des Charakters unserer Reaktion festgestellt werden.

Nur muß der Ton der Chloroformschicht intensiver sein als derjenige der Schwefelsäure, und die Farbe der Cholesterinlösung von 0,005 bis 0,01 muß eine orangegelbe Nuance enthalten; den Gehalt von Wasser erkennt man immer an den unvermeidlichen rosa und selbst lila Tönen.

Die Qualität des Chloroforms ist weniger wichtig.

Die von mir angewandte Methode gibt die Möglichkeit, unmittelbar und genau bis zu 1 dmg die Quantität des Cholesterins im Blutserum nachzuweisen.

Nach meinem Kolorimeter ist der mittlere normale Cholesteringehalt beim gesunden Menschen von 0,0005 bis 0,0012 in 1 ccm des Blutserums, was 0,5 bis 1,2 g auf 1 Liter entspricht.

Die Vorbereitung zum Versuche findet mittels Vergleichs der titrierten Cholesterinlösung mit den dazu passenden chemischen Farben statt.

Die Lösung von Bismarckbraun von *Merck* in 70 proz. Spiritus ist von den Laboratoriumsfarben zum Reaktionston am besten geeignet, nur ist diese Farbe nicht dauerhaft genug.

Einen dauerhaften Farbmesser habe ich mittels der in 40- bis 50 proz. Spiritus gelösten *Bayer*schen Benzobraunfarbe erhalten.

Bei einem hochgradigen Cholesteringehalt fügte ich unbedeutende Quantitäten von Wasserlösungen des Benzoasurins *Bayer* hinzu.

Mit Hilfe dieser zwei Farben kann man eine Reihe (Skala) von Kolorimeternuancen mit der Genauigkeit von 1 bis 2 dmg erhalten.

Um die Bestimmung der Cholesterämiezustände erfolgreich auszuführen, benutzt man für das Kolorimeter ganz gleiche hohe und dicke Röhrchen.

# Über den Harnsäure- und Allantoinstoffwechsel bei Avitaminose.

Von

**A. Adachi, Nagoya (Japan).**

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 4. Oktober 1923.)*

Mit 3 Abbildungen im Text.

Bei der Avitaminose liegt der Angelpunkt der Krankheit in der Störung des Zellstoffwechsels. Diese Stoffwechselstörung bezieht sich teils auf eine mangelhafte Stoffaufnahme der Zellen aus dem Blute, teils wohl auch auf eine gesteigerte Umsetzung der Stoffe in der Zelle. Daneben kommen noch andere Stoffwechselstörungen in Frage nach Art qualitativer Verschiebungen bei den Umsetzungen, die aber hier unberücksichtigt bleiben können. Durch die herabgesetzte Assimilation oder die gesteigerte Dissimilation wird nun eine Art Zellularhunger trotz anfänglich genügender Nahrungsresorption erzeugt. In den späteren Stadien der Avitaminose kann dann als eine der möglichen Folgen dieser avitaminösen zellulären Stoffwechselstörung auch eine Störung in der resorptiven Funktion der Darmwand auftreten. Manchmal erscheint dies Phänomen früher, manchmal später, manchmal erst in den letzten Lebenstagen. Dann aber gesellt sich zu dem Zellularhunger bei genügendem Nahrungsangebot ein echter Hunger infolge ungenügender Nahrungszufuhr zur Zelle. Dieser echte Hungerzustand ist aber immer nur eine sekundäre Folge der avitaminösen Erkrankung, denn die Resorptionsstörung ist erst die Folge der primären Störung des Zellstoffwechsels in der Darmwand.

Die Resorptionsstörung erkennen wir im Stoffwechselversuche an einer mangelhaften Aufnahme der Nahrung, für das Eiweiß an einem vermehrten N-Gehalt des Kotes. Da aber nun bei normaler Resorption bei der Avitaminose schon wegen des spezifisch avitaminösen Zellularhungers Symptome auftreten, denen wir ebenfalls, wenn auch in verstärkter Form, beim echten Hungerzustande begegnen, so ist es schwer,

genau abzugrenzen, was im späteren Stadium der Avitaminose auf den primären avitaminösen Zellularhunger, und was auf den Hunger infolge der Resorptionsstörung zu beziehen ist. Diese Schwierigkeiten in der Beurteilung muß man sich besonders vor Augen halten, wenn man den Purinstoffwechsel bei der Avitaminose studieren will. Denn ein nicht-avitaminöser, hungernder Körper scheidet ja mit dem Fortschreiten des Hungerzustandes durch den Zellzerfall Purinkörper in verstärktem Maße aus.

Da über den Harnsäure- und Allantoinstoffwechsel bei experimenteller Avitaminose keinerlei Untersuchungen vorliegen, habe ich an drei Hunden, bei denen im hiesigen Laboratorium Herr Dr. *Yoshiue* die Gesamt-N-Bilanz einschließlich der Ammoniak-, Harnstoff-, Aminosäure- und Kreatinausscheidung durch den Harn studierte, regelmäßig den Harnsäure- und Allantoingehalt des Harns bei dem ersten Hunde in je viertägigen Perioden, bei dem zweiten und dritten Hunde in je dreitägigen Perioden untersucht.

Die Versuchsanordnung war derart, daß die Tiere zunächst bei einer bestimmten vitaminhaltigen Stoffwechselkost in Körpergewicht- und Stickstoffgleichgewicht gebracht wurden.

Nach einer Vorperiode wurden die Vitamine, die in einer Citronensaft- und Buttergabe bestanden, fortgelassen. Die Butter wurde in der Vorperiode als frische Butter gereicht, in der vitaminfreien Periode war sie vorher autoklavisiert worden, in einem Falle, nämlich bei dem zweiten Hunde, auf offener Flamme mit der Nahrung über 5 Stunden gekocht worden.

Die Nahrung bestand, abgesehen von der Citronensaftzulage, teils aus Weizeneiweiß [1]), immer aus poliertem, gewaschenem Reis, aus 12 Stunden lang gekochtem und dann getrocknetem Pferdefleisch, aus Butter und Salzgemisch. In der vitaminfreien Periode war bei dem dritten Hunde das Fleisch und das Weizeneiweiß zweimal autoklavisiert worden. Bei der Autoklavenbehandlung blieb die Nahrung 3 Stunden bei 130 bis 135° C im Autoklaven.

Über die genaueren Einzelheiten der Versuchsanordnung wird Herr Dr. *Yoshiue* in seiner Arbeit berichten.

*Erster Hund.*

Körpergewicht: 6800 g. Männliches, etwa 1½ Jahre altes Tier.

Zusammensetzung der Nahrung:

| | |
|---|---|
| Reis | 45 g |
| Pferdefleisch | 35 g |
| Butter | 10 g |
| Salzgemisch | 2 g |
| (Citronensaft | 40 g) |
| Wasser | 520 g |

[1]) Das Weizeneiweiß war von der chemischen Fabrik Dr. Volkmar Klopfer, Dresden-Leubnitz, bezogen worden.

Zusammensetzung des Salzgemisches:

| | |
|---|---|
| NaCl | 250 g |
| Calcium phosphoricum | 100 g |
| Magnesium citricum | 100 g |
| KCl | 15 g |
| Ferrum citricum | 30 g |
| Jodum purum | 0,05 g |
| Jodkalium | 0,10 g |

Die Vorperiode dauerte 20 Tage, die Hauptperiode 25 Tage. Der Hund war also 45 Tage im Versuche. Am 40. Tage erkrankte der Hund an Erbrechen. Er fraß schlecht und starb am 46. Tage.

Bei der Sektion fand sich ein hochgradiger Darmkatarrh neben Blutungen in der Magen- und Darmschleimhaut. Vom 15. bis 34. Versuchstage hatte der Hund, der in dieser Zeit seine tägliche Nahrungsration quantitativ auffraß, etwa 400 g an Körpergewicht abgenommen, obgleich er in der Vorperiode im N- und Körpergewichtsgleichgewichtszustande bei der gleichen, nur vitaminhaltigen Nahrung gewesen war.

Aus der am Schluß der Arbeit angefügten Tabelle I, in der die Analysenergebnisse bei diesem Hunde verzeichnet sind, geht hervor, daß bei einer 25tägigen Dauer der Avitaminose, die wegen einer schweren, ziemlich akut einsetzenden skorbutischen Magen-Darmstörung vorzeitig zum Tode führte, sich in Harnsäure- und Allantoinstoffwechsel nichts geändert hat im Vergleich zur Vorperiode.

*Zweiter Hund.*

Körpergewicht: 6900 g. Männliches, etwa 2 Jahre altes Tier.

Zusammensetzung der Nahrung:

| | |
|---|---|
| Reis | 30 g |
| Pferdefleisch | 20 g |
| Weizeneiweiß | 15 g |
| Butter | 20 g |
| Zucker | 10 g |
| Salzgemisch | 2,5 g |
| (Citronensaft | 30 g) |
| Wasser | 500 g |

Zusammensetzung des Salzgemisches wie beim ersten Hunde.

Die Vorperiode (vitaminhaltige Nahrung) dauerte 14 Tage, die Hauptperiode (vitaminfreie Nahrung) 50 Tage. Der Versuch währte also 64 Tage. Der Hund erkrankte am 30. Versuchstage an Erbrechen, besserte sich dann, darauf erfolgte mit Intervallen am 51., 54., 56., 60. Versuchstage abermals Erbrechen. Gelegentliche Citronensaftzulagen besserten den Zustand nicht nennenswert. Die Hinterbeine des Tieres zeigten in den letzten Wochen ein leicht paretisches Verhalten. Am 64. Versuchstage trat der Tod ein. Im Magen-Darmkanal fanden sich schwere Blutungen, ebenso in anderen Organen. Da in den letzten Wochen auch die Nahrungsaufnahme vielfach schlecht war, hatte das Körpergewicht rapide abgenommen.

In der Tabelle II am Schluß der Arbeit sind die Analysenergebnisse bei diesem Hunde zusammengestellt. Es geht daraus hervor, daß der Harnsäurestoffwechsel während der ganzen Krankheit des Tieres keine nennenswerte Änderung erkennen ließ. Der Allantoingehalt im Harn war wohl in der Mitte der Hauptperiode etwas gesunken, aber am Ende so hoch, wie in der Vorperiode. Da bei diesem Hunde die Avitaminose zu einer lang dauernden schweren Magen-Darmstörung geführt hatte, kann man nur so viel aus diesem Versuche schließen, daß bei einer 50tägigen Dauer der Avitaminose keine merklichen Störungen im Harnsäure- und Allantoinstoffwechsel auftreten.

### *Dritter Hund.*

Körpergewicht: 7200 g. Männliches, über 10 Jahre altes Tier.

Zusammensetzung der Nahrung:

| | |
|---|---|
| Reis | 35 g |
| Weizeneiweiß | 15 g |
| Pferdefleisch | 20 g |
| Butter | 25 g |
| Zucker | 10 g |
| Salzgemisch | 3 g |
| (Citronensaft | 30 g) |
| Wasser | 550 g |

Zusammensetzung des Salzgemisches wie beim ersten Hunde.

Die Vorperiode (vitaminhaltiges Futter) dauerte 7 Tage, die Hauptperiode (vitaminfreies Futter) 103 Tage. Der Hund wurde im ganzen 110 Tage beobachtet. Der Hund zeigte während der ganzen Zeit keine Magen-Darmstörung, bis auf eine vorübergehende, leichte Diarrhoe am 32. Versuchstage und am 43. Versuchstage. Das Körpergewicht nahm allmählich mit gewissen Schwankungen in der Hauptperiode ab, leichte Paresen traten an den Hinterbeinen auf.

Aus der Tabelle III am Ende der Arbeit, in der die Analysenergebnisse bei diesem dritten Hunde zusammengestellt sind, und aus einem Vergleich dieser Tabelle mit den Tabellen I und II geht hervor, daß dieser dritte Hund im Gegensatz zu den beiden anderen Hunden in der Vorperiode verhältnismäßig wenig Harnsäure und Allantoin ausschied. Der dritte Hund war auch im Gegensatz zu den beiden anderen bedeutend älter. Der jugendliche Körper scheidet ja überhaupt mehr Allantoin aus als der Körper des Erwachsenen. In der Hauptperiode trat allmählich eine leichte Vermehrung der Harnsäureausscheidung auf. Vom 40. bis 50. Versuchstage war die Harnsäureausscheidung zwar wieder etwas vermindert, aber immer noch höher als in der Vorperiode. Vom 50. bis 110. Versuchstage stieg die Harnsäureausscheidung allmählich wieder an und war am Ende des Versuches stark vermehrt im Vergleich zur Vorperiode. Die Allantoinausscheidung blieb bis zum 32. Versuchstage unverändert. Vom 32. bis 50. Versuchstage nahm sie ab. Vom 50. bis 110. Versuchstage stieg der Allantoinwert des Harns wieder an und erreichte die Höhe, die er in der Vorperiode und in der ersten Zeit der Hauptperiode gehabt hatte.

## Schlußfolgerung.

Wenn man die Allantoinausscheidung bei allen drei Hunden, die sämtlich schwere Avitaminoseerscheinungen (Blutungen, Lähmungen, Körpergewichtsabnahme) erkennen ließen, betrachtet, so findet man, daß gröbere Störungen im Allantoinstoffwechsel nicht auftreten. Die vorübergehende Abnahme der Allantoinausscheidung beim dritten Hunde fällt mit dem analogen Vorgange bei der Harnsäureausscheidung zusammen. Die Harnsäureausscheidung kann ebenfalls bei der Avitaminose in den ersten Wochen der Erkrankung unverändert verlaufen. Wenn eine Änderung eintritt, so handelt es sich höchstens, wie bei dem dritten Hunde, zunächst nur um eine mäßige Steigerung der Harnsäureausfuhr. Worauf die vorübergehende Senkung in der Mitte der Hauptperiode bei dem zweiten und dritten Hunde beruht, ist nicht ersichtlich. Mit fortschreitender Avitaminose, also bei langdauernder Krankheit und in den späteren Stadien aber nimmt die Harnsäureausscheidung zu, wie das die Beobachtungen an dem dritten Hunde lehren. Die Zunahme kann sogar recht beträchtlich sein, den dreifachen Wert der Vorperiode erreichen.

Den Verlauf der Harnsäure- und Allantoinausscheidung bei den drei Hunden veranschaulichen die vorstehenden Kurven.

Bei den Kurven gibt der Maßstab den Harnsäuregehalt in Milligrammen pro 1 kg Körpergewicht, den Allantoingehalt in Grammen pro 1 kg Körpergewicht an.

Die Werte für die Harnsäure- und Allantoinausscheidung gehen teils parallel, teils divergieren sie. Die eigentliche Störung aber zeigt wohl nur die Harnsäureausscheidung, indem diese schließlich bei langdauernder Krankheit stärker gesteigert ist.

Da die Nahrung während der ganzen Versuchsdauer bei jedem Tiere immer die gleiche war, so muß die Steigerung der Harnsäureausscheidung auf einer Störung in dem Umsatz der endogenen Purinkörper beruhen. Es würde das also einen verstärkten Verbrauch von Nucleinen im späteren Stadium der Avitaminose bedeuten. Da die Nucleine Zellkernbestandteile sind, würde sich also daraus ergeben, daß die Zellkerne resistenter sind als das Protoplasma bei der Avitaminose, da ja von vornherein schon bei diesen Tieren, wie hier noch zugefügt sein mag, eine negative N-Bilanz in der Hauptperiode auftrat.

Mit dieser Schlußfolgerung stimmt die Beobachtung von *Yamasaki*[1]) aus dem hiesigen Laboratorium überein, der fand, daß bei der Avitaminose in den Hoden Riesenzellen mit zahlreichen Kernen auftreten,

[1]) Virchows Archiv **245**, 1923.

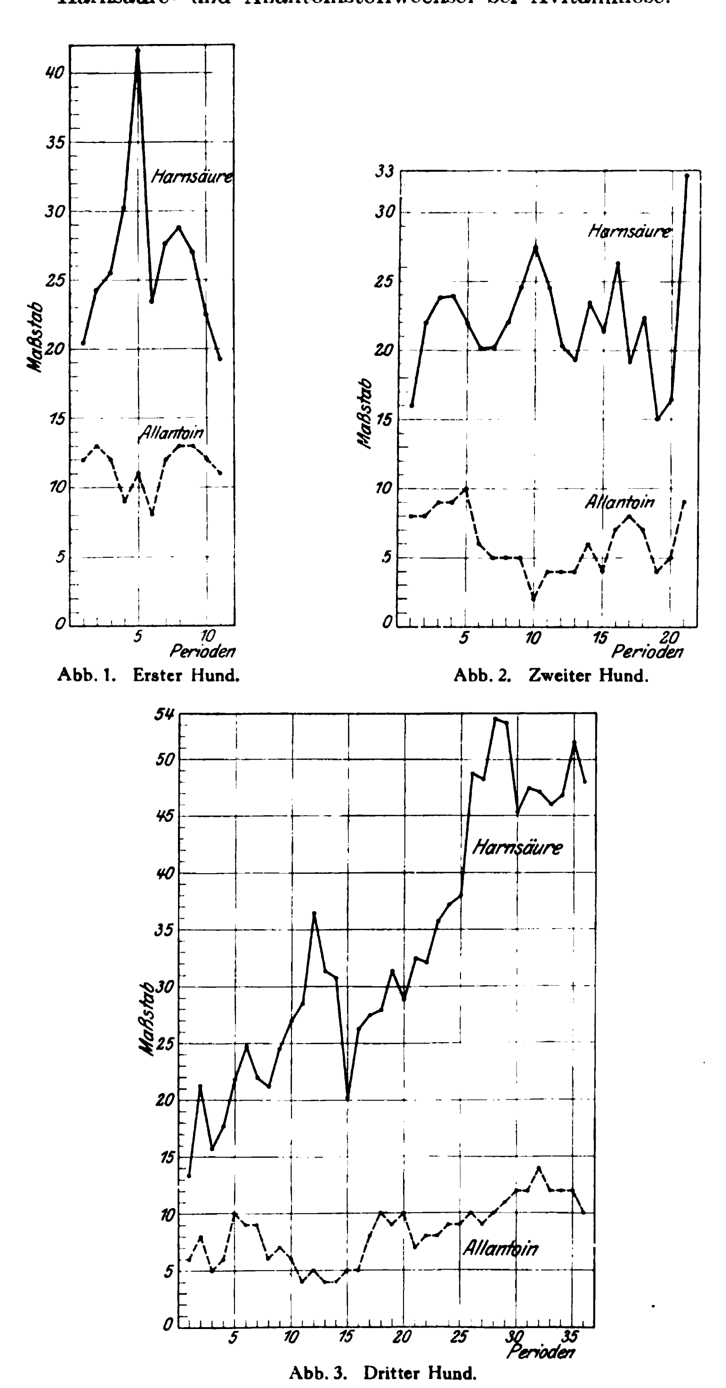



Abb. 1. Erster Hund.

Abb. 2. Zweiter Hund.

Abb. 3. Dritter Hund.

also ein Phänomen nachweisbar wird, das dadurch zustande kommt. daß das Protoplasma seine Proliferationsfähigkeit zu einer Zeit schon eingebüßt hat, in der der Kern diese noch voll besitzt.

## Chemische Methodik.

Zur Bestimmung des Allantoins (*Wiechowski*). Jede Bestimmung wurde immer zweimal gemacht und die Durchschnittszahl berechnet. Zunächst habe ich 50 ccm Harn mit 5 ccm 1proz. Schwefelsäure und 5 ccm 10proz. Essigsäure versetzt und dann Proben von 2 ccm mit 50proz. Phosphorwolframsäure gemischt, um die gerade zur Ausfällung nötige Menge Phosphorwolframsäure auszutitrieren. Dabei fand ich, daß etwa 10 bis 15 ccm 50proz. Phosphorwolframsäure nötig waren.

Nach dem Zusatz der Phosphorwolframsäure bewirkte ich das Lösen derselben durch Umrühren und ließ die Mischung mehrere Stunden ruhig stehen. Nun habe ich unter Benutzung eines Kieselgurfilters auf einer Nutsche filtriert, bei dem Kieselgurfilter habe ich nicht zu große Mengen Kieselgur gebraucht.

Darauf habe ich das Filtrat mit etwa 100 bis 200 g gewöhnlichem Bleioxyd unter Umrühren versetzt, wodurch alkalische Reaktion auftrat. Dann habe ich abgenutscht und einen Teil des Filtrats mit Bleiessig geprobt, ob danach noch Trübung auftreten würde.

Nach dem Ansäuern mit Salpetersäure, mit Lackmusreagenzpapier habe ich die saure Reaktion festgestellt, habe ich dann durch Silbernitratlösung (etwa 10 ccm Flüssigkeit zu 0,6 ccm Silbernitratlösung) das Chlor entfernt, weil ich in Deutschland kein Silberacetat bekommen konnte, und habe mit einem Kieselgurfilter abgenutscht.

Durch Schwefelwasserstoff habe ich alsdann aus dem Filtrat die Schwermetalle entfernt, abgenutscht und aus dem Filtrat durch Durchleiten von Luft den überschüssigen Schwefelwasserstoff entfernt, dann habe ich durch Magnesiumoxydzusatz die Flüssigkeit alkalisch gemacht.

Das Filtrat wurde mit dem Quecksilberacetatreagens (½proz. Quecksilberacetatlösung in 20proz. Natriumacetatlösung) zur völligen Fällung des Allantoins versetzt, und zwar mit der nötigen Menge 100 : 25 ccm. Nachdem der Niederschlag sich völlig abgesetzt hatte, habe ich filtriert und so lange gewaschen, bis mit Mercurinitratlösung keine Harnstoffreaktion mehr auftrat. Dann habe ich den Niederschlag mit dem Filter direkt nach *Kjeldahl* verbrannt, aber vor der Destillation das Quecksilbernitrat durch Thiosulfat gefällt.

Zur Harnsäurebestimmung. Ich habe nach der *Folin* und *Schaffer*schen Methode die Harnsäurebestimmung gemacht: 300 ccm Harn versetzte ich mit 75 ccm einer Lösung, die im Liter 500 g Ammoniumsulfat, 5 g Uranacetat und 60 ccm 10proz. Essigsäure enthielt, und filtrierte nach 5 Minuten ab.

Von dem Filtrat versetzte ich 125 ccm mit 5 ccm konzentriertem Ammoniak. Nach 24 Stunden filtrierte ich den Niederschlag und habe ihn auf dem Filter mittels 10proz. Ammoniumsulfat chlorfrei gewaschen; dann spülte ich den Niederschlag mit 100 ccm Wasser in einen Kolben, setzte 15 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzu und titrierte bei 60 bis 63° C mit n/20 Kaliumpermanganatlösung, die immer mit n/20 Oxalsäurelösung austitriert war.

*Tabelle I.* Erster Hund.

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 6820 | 620 | — | — | — | — | Vitaminhaltiges Futter |
| 2. | 6900 | 470 | — | — | — | — | |
| 3. | 6900 | 450 | — | — | — | — | |
| 4. | 6850 | 470 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6868 | — | 14,23 | 2,07 | 0,873 08 | 0,12 | |
| 5. | 6850 | 495 | — | — | — | — | |
| 6. | 6800 | 550 | — | — | — | — | |
| 7. | 6800 | 640 | — | — | — | — | |
| 8. | 6800 | 550 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6818 | — | 16,54 | 2,43 | 0,882 40 | 0,13 | |
| 9. | 6840 | 450 | — | — | — | — | |
| 10. | 6840 | 510 | — | — | — | — | |
| 11. | 6740 | 660 | — | — | — | — | |
| 12. | 6870 | 435 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6823 | — | 17,46 | 2,56 | 0,865 02 | 0,12 | |
| 13. | 6800 | 730 | — | — | — | — | |
| 14. | 6770 | 485 | — | — | — | — | |
| 15. | 6800 | 600 | — | — | — | — | |
| 16. | 6800 | 510 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6793 | — | 20,58 | 3,02 | 0,666 36 | 0,09 | |
| 17. | 6800 | 530 | — | — | — | — | |
| 18. | 6800 | 625 | — | — | — | — | |
| 19. | 6800 | 520 | — | — | — | — | |
| 20. | 6720 | 550 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6780 | — | 28,42 | 4,19 | 0,726 74 | 0,11 | |
| 21. | 6750 | 380 | — | — | — | — | Vitaminfreies Futter |
| 22. | 6750 | 500 | — | — | — | — | |
| 23. | 6750 | 420 | — | — | — | — | |
| 24. | 6600 | 540 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6713 | — | 15,79 | 2,34 | 0,561 68 | 0,08 | |
| 25. | 6600 | 660 | — | — | — | — | |
| 26. | 6600 | 520 | — | — | — | — | |
| 27. | 6600 | 460 | — | — | — | — | |
| 28. | 6600 | 450 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6600 | — | 18,43 | 2,79 | 0,801 50 | 0,12 | |
| 29. | 6550 | 550 | — | — | — | — | |
| 30. | 6550 | 470 | — | — | — | — | |
| 31. | 6600 | 540 | — | — | — | — | |
| 32. | 6600 | 590 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6575 | — | 18,82 | 2,86 | 0,860 40 | 0,13 | |

*Tabelle I.* Erster Hund. (Fortsetzung).

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 33 | 6550 | 480 | — | — | — | — | |
| 34. | 6550 | 510 | — | — | — | — | |
| 35. | 6520 | 500 | — | — | — | — | |
| 36. | 6520 | 450 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6528 | — | 17,68 | 2,71 | 0,831 02 | 0,13 | |
| 37. | 6500 | 420 | — | — | — | — | |
| 38. | 6500 | 400 | — | — | — | — | |
| 39. | 6520 | 410 | — | — | — | — | |
| 40. | 6440 | — | — | — | — | — | |
| 41. | 6420 | 420 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6472 | — | 14,53 | 2,25 | 0,813 54 | 0,12 | |
| 42. | 6320 | 390 | — | — | — | — | |
| 43. | 6300 | 110 | — | — | — | — | |
| 44. | 6150 | 110 | — | — | — | — | |
| 45. | — | — | — | — | — | — | |
| 46. | Tot | — | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6257 | — | 12,05 | 1,91 | 0,657 74 | 0,11 | |

*Tabelle II.* Zweiter Hund.

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 6900 | 350 | — | — | — | — | Vitaminhaltiges Futter |
| 2. | 6900 | 380 | — | — | — | — | |
| 3. | 6880 | 310 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6893 | — | 11,55 | 1,67 | 0,582 38 | 0,08 | |
| 4. | 7200 | — | — | — | — | — | |
| 5. | 7200 | 325 | — | — | — | — | |
| 6. | 7050 | 410 | — | — | — | — | |
| 7. | 7000 | 420 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 7113 | — | 15,72 | 2,21 | 0,569 84 | 0,08 | |
| 8. | 6850 | 540 | — | — | — | — | |
| 9. | 6900 | 270 | — | — | — | — | |
| 10. | 6800 | 280 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6850 | — | 16,44 | 2,39 | 0,666 52 | 0,09 | |
| 11. | 6900 | 250 | — | — | — | — | |
| 12. | 6950 | 200 | — | — | — | — | |
| 13. | 6920 | 320 | — | — | — | — | |
| 14. | 6950 | 420 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6930 | — | 16,66 | 2,40 | 0,639 60 | 0,09 | |
| 15. | 6800 | 380 | — | — | — | — | Vitaminfreies Futter |
| 16. | 6750 | 330 | — | — | — | — | |
| 17. | 6750 | 290 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6767 | — | 14,88 | 2,20 | 0,681 98 | 0,10 | |

*Tabelle II.* Zweiter Hund. (Fortsetzung).

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 18. | 6800 | 270 | — | — | — | — | |
| 19. | 6750 | 350 | — | — | — | — | |
| 20. | 6750 | 230 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6767 | — | 13,65 | 2,02 | 0,429 52 | 0,06 | |
| 21. | 6750 | 360 | — | — | — | — | |
| 22. | 6750 | 350 | — | — | — | — | |
| 23. | 6700 | 230 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6717 | — | 13,75 | 2,04 | 0,335 82 | 0,05 | |
| 24. | 6700 | 210 | — | — | — | — | |
| 25. | 6620 | 400 | — | — | — | – | |
| 26. | 6650 | 310 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6657 | — | 14,73 | 2,21 | 0,463 12 | 0,06 | |
| 27. | 6650 | 350 | — | — | — | — | |
| 28. | 6600 | 430 | — | — | — | — | |
| 29. | 6630 | 400 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6627 | — | 16,29 | 2,46 | 0,314 26 | 0,05 | |
| 30. | 6570 | 450 | — | — | — | — | |
| 31. | 6520 | 350 | — | — | — | — | |
| 32. | 6500 | — | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6523 | — | 18,00 | 2,76 | 0,128 00 | 0,02 | |
| 33. | 6300 | 280 | — | — | — | — | |
| 34. | 6200 | 350 | — | — | — | — | |
| 35. | 6200 | 230 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6233 | — | 15,31 | 2,45 | 0,284 00 | 0,04 | |
| 36. | 6250 | 170 | — | — | — | — | |
| 37. | 6230 | 140 | — | — | — | — | |
| 38. | 6250 | 160 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6243 | — | 12,69 | 2,03 | 0,241 50 | 0,04 | |
| 39. | 6320 | 190 | — | — | — | — | |
| 40. | 6470 | 300 | — | — | — | — | |
| 41. | 6650 | 180 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6480 | — | 12,50 | 1,93 | 0,230 12 | 0,04 | |
| 42. | 6450 | 240 | — | — | — | — | |
| 43. | 6450 | 280 | — | — | — | — | |
| 44. | 6450 | 340 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6450 | — | 15,40 | 2,39 | 0,328 68 | 0,06 | |
| 45. | 6450 | 290 | — | — | — | — | |
| 46. | 6420 | 300 | — | — | — | — | |
| 47. | 6400 | 340 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6423 | — | 13,63 | 2,12 | 0,247 18 | 0,04 | |

*Tabelle II.* Zweiter Hund. (Fortsetzung).

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 48. | 6440 | 250 | — | — | — | — | |
| 49. | 6440 | 210 | — | — | — | — | |
| 50. | 6400 | 250 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6427 | — | 16,94 | 2,64 | 0,478 78 | 0,07 | |
| 51. | 6430 | 260 | — | — | — | — | |
| 52. | 6440 | 310 | — | — | — | — | |
| 53. | 6440 | 240 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6437 | — | 12,25 | 1,90 | 0,515 87 | 0,08 | |
| 54. | 6420 | 150 | — | — | — | — | |
| 55. | 6400 | — | — | — | — | — | |
| 56. | 6400 | 230 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6407 | — | 14,40 | 2 25 | 0,486 4 | 0,07 | |
| 57. | 6400 | 220 | — | — | — | — | |
| 58. | 6300 | — | — | — | — | — | |
| 59. | 6150 | 160 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6283 | — | 8,81 | 1,40 | 0,272 6 | 0,04 | |
| 60. | 6100 | 270 | — | — | — | — | |
| 61. | 5800 | 410 | — | — | — | — | |
| 62. | 5600 | 150 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 5833 | — | 8,78 | 1,55 | 0,304 2 | 0,05 | |
| 63. | 5400 | 260 | — | — | — | — | |
| 64. | 5400 | 270 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 5400 | — | 17,76 | 3,29 | 0,512 00 | 0,09 | |

*Tabelle III.* Dritter Hund.

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 7400 | 270 | — | — | — | — | Vitaminhaltiges Futter |
| 2. | 7350 | 200 | — | — | — | — | |
| 3. | 7220 | — | — | — | — | — | |
| 4. | 7220 | 410 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 7297 | — | 11,17 | 1,35 | 0,435 00 | 0,06 | |
| 5. | 7200 | 440 | — | — | — | — | |
| 6. | 7250 | 170 | — | — | — | — | |
| 7. | 7050 | 470 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 7167 | — | 15,62 | 2,18 | 0,566 60 | 0,08 | |
| 8. | 7200 | 320 | — | — | — | — | Vitaminfreies Futter |
| 9. | 7220 | 260 | — | — | — | — | |
| 10. | 7150 | 230 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 7190 | — | 11,05 | 1,58 | 0,368 00 | 0,05 | |

*Tabelle III.* Dritter Hund. (Fortsetzung).

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11. | 7050 | 300 | — | — | — | — | |
| 12. | 7170 | 280 | — | — | — | — | |
| 13. | 7100 | 530 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 7107 | — | 12,35 | 1,77 | 0,427 96 | 0,06 | |
| 14. | 7100 | 350 | — | — | — | — | |
| 15. | 6950 | 510 | — | — | — | — | |
| 16. | 7050 | — | — | — | — | — | |
| 17. | 6900 | 420 | — | — | — | — | |
| 18. | 6850 | 390 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6970 | — | 16,93 | 2,17 | 0,670 80 | 0,10 | |
| 19. | 7020 | 170 | — | — | — | — | |
| 20. | 6920 | 470 | — | — | — | — | |
| 21. | 6900 | 430 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6947 | — | 17,34 | 2,49 | 0,627 40 | 0,09 | |
| 22. | 6920 | 340 | — | — | — | — | |
| 23. | 6750 | 420 | — | — | — | — | |
| 24. | 6850 | 320 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6840 | — | 15,06 | 2,20 | 0,610 28 | 0,09 | |
| 25. | 6840 | 380 | — | — | — | — | |
| 26. | 6700 | 350 | — | — | — | — | |
| 27. | 6720 | 340 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6753 | — | 14,45 | 2,14 | 0,391 50 | 0,06 | |
| 28. | 6790 | 350 | — | — | — | — | |
| 29. | 6750 | 350 | — | — | — | — | |
| 30. | 6550 | 450 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6697 | — | 16,51 | 2,46 | 0,512 0 | 0,07 | |
| 31. | 6720 | 210 | — | — | — | — | |
| 32. | 6670 | 410 | — | — | — | — | |
| 33. | 6600 | 370 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6663 | — | 18,00 | 2,70 | 0,400 00 | 0,06 | |
| 34. | 6550 | 350 | — | — | — | — | |
| 35. | 6600 | 160 | — | — | — | — | |
| 36. | 6550 | 250 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6567 | — | 18,72 | 2,85 | 0,287 20 | 0,04 | |
| 37. | 6600 | 310 | — | — | — | — | |
| 38. | 6550 | 360 | — | — | — | — | |
| 39. | 6620 | 300 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6590 | — | 24,07 | 3,65 | 0,310 80 | 0,05 | |
| 40. | 6800 | 250 | — | — | — | — | |
| 41. | 6800 | 340 | — | — | — | — | |
| 42. | 6800 | 340 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6800 | — | 21,37 | 3,14 | 0,243 20 | 0,04 | |

*Tabelle III.* Dritter Hund. (Fortsetzung).

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 43. | 6620 | 320 | — | — | — | — | |
| 44. | 6670 | 200 | — | — | — | — | |
| 45. | 6850 | 330 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6713 | — | 20,65 | 3,07 | 0,299 06 | 0,04 | |
| 46. | 6750 | 330 | — | — | — | — | |
| 47. | 6770 | 290 | — | — | — | — | |
| 48. | 7000 | 250 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6840 | — | 13,93 | 2,03 | 0,371 50 | 0,05 | |
| 49. | 6920 | 410 | — | — | — | — | |
| 50. | 6720 | 500 | — | — | — | — | |
| 51. | 6700 | 300 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6780 | — | 17,41 | 2,63 | 0,321 98 | 0,05 | |
| 52. | 6840 | 330 | — | — | — | — | |
| 53. | 6840 | 290 | — | — | — | — | |
| 54. | 6770 | 490 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6817 | — | 18,52 | 2,75 | 0,559 64 | 0,08 | |
| 55. | 6720 | 480 | — | — | — | — | |
| 56. | 6720 | 310 | — | — | — | — | |
| 57. | 6720 | 420 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6720 | — | 18,83 | 2,80 | 0,663 43 | 0,10 | |
| 58. | 6720 | 310 | — | — | — | — | |
| 59. | 6700 | 430 | — | — | — | — | |
| 60. | 6720 | 340 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6713 | — | 21,11 | 3,14 | 0,574 98 | 0,09 | |
| 61. | 6700 | 530 | — | — | — | — | |
| 62. | 6720 | 340 | — | — | — | — | |
| 63. | 6670 | 360 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6697 | — | 18,97 | 2,87 | 0,674 40 | 0,10 | |
| 64. | 6670 | 430 | — | — | — | — | |
| 65. | 6650 | 530 | — | — | — | — | |
| 66. | 6650 | 400 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6657 | — | 21,77 | 3,27 | 0,479 96 | 0,07 | |
| 67. | 6700 | 360 | — | — | — | — | |
| 68. | 6700 | 330 | — | — | — | — | |
| 69. | 6720 | 420 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6707 | — | 21,61 | 3,22 | 0,526 72 | 0,08 | |
| 70. | 6800 | 300 | — | — | — | — | |
| 71. | 6700 | 540 | — | — | — | — | |
| 72. | 6630 | 450 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6710 | — | 24,06 | 3,58 | 0,550 20 | 0,08 | |

*Tabelle III.* Dritter Hund. (Fortsetzung).

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 73. | 6700 | 300 | — | — | — | — | |
| 74. | 6700 | 480 | — | — | — | — | |
| 75. | 6600 | 450 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6667 | — | 25,10 | 3,71 | 0,569 16 | 0,09 | |
| 76. | 6600 | 370 | — | — | — | — | |
| 77. | 6700 | 440 | — | — | — | — | |
| 78. | 6650 | 370 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6650 | — | 25,31 | 3,80 | 0,594 22 | 0,09 | |
| 79. | 6550 | 530 | — | — | — | — | |
| 80. | 6700 | 280 | — | — | — | — | |
| 81. | 6620 | 620 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6627 | — | 32,29 | 4,87 | 0,689 04 | 0,10 | |
| 82. | 6600 | 460 | — | — | — | — | |
| 83. | 6650 | 480 | — | — | — | — | |
| 84. | 6640 | 580 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6630 | — | 31,95 | 4,81 | 0,606 08 | 0,09 | |
| 85. | 6640 | 530 | — | — | — | — | |
| 86. | 6590 | 490 | — | — | — | — | |
| 87. | 6640 | 710 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6623 | — | 38,70 | 5,34 | 0,660 10 | 0,10 | |
| 88. | 6620 | 580 | — | — | — | — | |
| 89. | 6650 | 410 | — | — | — | — | |
| 90. | 6600 | 470 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6623 | — | 38,58 | 5,32 | 0,760 80 | 0,11 | |
| 91. | 6620 | 480 | — | — | — | — | |
| 92. | 6600 | 460 | — | — | — | — | |
| 93. | 6600 | 380 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6607 | — | 30,15 | 4,51 | 0,821 56 | 0,12 | |
| 94. | 6600 | 440 | — | — | — | — | |
| 95. | 6600 | 560 | — | — | — | — | |
| 96. | 6570 | 450 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6590 | — | 31,39 | 4,76 | 0,799 80 | 0,12 | |
| 97. | 6600 | 410 | — | — | — | — | |
| 98. | 6600 | 560 | — | — | — | — | |
| 99. | 6600 | 460 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6600 | — | 31,16 | 4,72 | 0,914 54 | 0,14 | |
| 100. | 6600 | 440 | — | — | — | — | |
| 101. | 6620 | 450 | — | — | — | — | |
| 102. | 6560 | 430 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6593 | — | 30,37 | 4,60 | 0,810 00 | 0,12 | |

*Tabelle III.* Dritter Hund. (Fortsetzung).

| Versuchstag | Körpergewicht in g | Harnmenge in ccm | Harnsäuregehalt des Harns in mg | Harnsäuregehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Allantoingehalt des Harns in g | Allantoingehalt des Harns auf 1 kg Körpergew. berechnet | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 103. | 6600 | 610 | — | — | — | — | |
| 104. | 6600 | 320 | — | — | — | — | |
| 105. | 6500 | 410 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6567 | — | 30,75 | 4,69 | 0,754 40 | 0,12 | |
| 106. | 6600 | 330 | — | — | — | — | |
| 107. | 6540 | 570 | — | — | — | — | |
| 108. | 6500 | 470 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6547 | — | 33,87 | 5,17 | 0,794 64 | 0,12 | |
| 109. | 6440 | 400 | — | — | — | — | |
| 110. | 6440 | 440 | — | — | — | — | |
| 111. | 6440 | 420 | — | — | — | — | |
| Periodendurchschnitt: | 6427 | — | 30,87 | 4,80 | 0,691 32 | 0,10 | |

# Über die quantitative Darstellung des Harnstoffs aus menschlichem Harne.

Von

**Wm. O. Moor.**

(Aus dem chemischen Laboratorium der russischen Akademie der Wissenschaften in Petrograd).

*(Eingegangen am 5. Oktober 1923.)*

Der erste, der darauf hinwies, daß die schwere Löslichkeit des oxalsauren Harnstoffs im Amylalkohol sich zu quantitativen Harnstoffbestimmungen eignen dürfte, war *Brücke*[1]).

Aus unbekannten Gründen hat jedoch *Brücke* seine Idee nicht weiter ausgearbeitet, und auch in der Folge wurde die Fällung des Harnstoffs durch Oxalsäure aus seiner amylalkoholischen Lösung zur quantitativen Harnstoffbestimmung nicht angewendet; vielleicht schienen die Schwierigkeiten fast unüberwindlich, den Harnstoff aus dem Urin in Amylalkohol überzuführen.

Erst im Jahre 1906 hat *Lippich*[2]) durch sechs Versuche mit reinem Harnstoff nachgewiesen, daß man durch Oxalsäure in amlyalkoholischer Lösung bis zu 99 Proz. des verwendeten Harnstoffs wiedergewinnen kann. Somit war endlich die Möglichkeit gegeben, U+-Bestimmungen auszuführen, die an Genauigkeit nichts zu wünschen übrig ließen. Man brauchte doch nur zum erhaltenen Werte für Harnstoff $^1/_{100}$ dieser Ziffer hinzuzufügen, um sicher zu sein, daß der Fehler in der U+-Bestimmung im Mittel nicht über $^1/_{200}$ des erhaltenen Wertes ausmachte. Keine der indirekten Methoden der Harnstoffbestimmung konnte auch nur annähernd auf eine solche Genauigkeit Anspruch machen. Freilich war es nicht der Zweck *Lippichs*, diese direkten Fällungsanalysen für den allgemeinen Gebrauch vorzuschlagen, vielmehr benutzte er ihre Ergebnisse, um sie mit der U+-Bestimmung nach *Pflüger-Schöndorff* zu vergleichen. In der Tat ist das Verfahren *Lippichs* mit zu großen Schwierigkeiten verbunden und erfordert einen Aufwand an Geduld und physischer Ausdauer, die nicht einem jeden zu Gebote stehen. Ich habe in der Folge mich eingehend mit *Lippichs* Arbeit befaßt und stellte mir die zweifache Aufgabe, erstens die Fällung des Harnstoffs durch Oxalsäure in amylalkoholischer Lösung zu einer leicht

---

[1]) Monatsh. f. Chem. 8, 195.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 170.

ausführbaren zu machen, und zweitens die Resultate der Fällungsanalysen mit einer der gebräuchlichen Methoden der U+-Bestimmung zu vergleichen [1]).

*Lippich* verwendete zur Extraktion des Harnstoffs aus dem Harnrückstande eine Mischung gleicher Teile Amyl- und Äthylalkohols. Wie schwierig ein derartiges Vorgehen war, ist schon daraus ersichtlich, daß der im Kolben befindliche Rückstand mindestens viermal extrahiert werden mußte, wobei mit dem Glasstabe der an der Wand haftende Niederschlag abgekratzt und in der Flüssigkeit verrührt wurde. Die Extraktionsdauer betrug 1 bis 4 Stunden (!), je nach der Beschaffenheit des Niederschlages.

Ich mußte also ein Lösungsmittel finden, durch welches die Extraktion und Überführung des Harnstoffs in eine amylalkoholische Lösung zu einer leichten Aufgabe wurde. Ein solches Lösungsmittel fand ich im Methylalkohol (Alcohol methylicus purissimus). Die Anwendung des Methylalkohols bei der Extraktion des Harnstoffs ist in dreifacher Hinsicht von größtem Vorteile. Vor allem löst er den Harnstoff viel leichter als der Äthylalkohol; 100 Gewichtsteile Methylalkohol halten bei Zimmertemperatur 21,5 Gewichtsteile Harnstoff in Lösung, während eine gesättigte äthylalkoholische Lösung von Harnstoff nur 5 Proz. des letzteren enthält.

Eine zweite Eigenschaft des Methylalkohols, die bei der $U^+$-Extraktion eine wichtige Rolle spielt, ist seine Fähigkeit, zugleich mit dem $U^+$ auch das Urochrom des Harnrückstandes leicht in Lösung zu bringen. Wird nämlich der Urin ganz eingedampft und im Exsikkator über Schwefelsäure von Wasser befreit, so ist es eine mühevolle Aufgabe, den Harnstoff aus diesem wasserfreien Rückstande mittels Äthylalkohol quantitativ zu gewinnen. Das harzige, klebrige Urochrom ist im absoluten Alkohol vollkommen unlöslich und gibt den Harnstoff nur nach wiederholter energischer Behandlung mit Äthylalkohol an den letzteren ab [2]).

Ganz anders verhält es sich, wenn Methylalkohol zur Extraktion verwendet wird. Werden 20 ccm Urin in einem kleinen Erlenmeyerkolben vor der Wasserstrahlpumpe eingedampft, bis der Rückstand unbeweglich ist, und hierauf der Kolben in einem Vakuumexsikkator über Schwefelsäure etwa eine halbe Stunde gelassen, so wird durch

---

[1]) Eine vorläufige Mitteilung über diesen Gegenstand wurde der russischen Akademie der Wissenschaften schon am 15. April 1914 vorgelegt.

[2]) Die Unlöslichkeit des Urochroms in absolutem Alkohol wird in meiner nächsten Arbeit eingehend erörtert werden. Daß dieser Farbstoff im Alkohol unlöslich sein muß, ist schon daraus ersichtlich, daß er bei seiner Darstellung nach *Kramers* Verfahren *durch einige Volumen Äthylalkohol* aus einer Phenollösung *gefällt* wird. *Neubauer* und *Vogel*, Analyse des Harns, 10. Aufl., S. 507.

Verreibung des Rückstandes mit 10 ccm Methylalkohol der ganze Harnstoff dieser 20 ccm Urin in etwa 8 bis 10 Minuten in Lösung gebracht[1]), da zu gleicher Zeit auch das Urochrom gelöst wird, was schon daraus ersichtlich ist, daß der Harnrückstand nach seiner Behandlung mit Methylalkohol vollkommen farblos wird.

Noch in einer dritten Hinsicht ist der Methylalkohol ein sehr vorteilhaftes Extraktionsmittel bei der quantitativen Darstellung des Harnstoffs aus dem menschlichen Urin. Wird nämlich die methylalkoholische Lösung des Harnstoffs mit Amylalkohol vermengt, so ist es ein leichtes, den letzteren vom Methylalkohol bei einer Temperatur von 40° zu befreien, da der Siedepunkt des reinen Methylalkohols bei 65°, der des Amylalkohols hingegen bei 131° liegt.

Nach zahlreichen von mir ausgeführten Versuchen halte ich das folgende Verfahren für das zweckmäßigste, den Harnstoff aus dem Urin quantitativ zu gewinnen.

Je nach seinem spezifischen Gewicht werden 20 bis 30 ccm Urin zur U+-Darstellung verarbeitet. Bei einem spezifischen Gewicht von 1022 und darüber genügen 20 ccm Urin, bei 1017 bis 1021 spezifischem Gewicht sind 25 ccm, bei noch geringerem spezifischen Gewicht 30 ccm Urin nötig. Es ist doch offenbar, daß bei der Fällung des U+ aus Amylalkohol der Fehler im erhaltenen Werte für U+ um so kleiner sein muß, je mehr U+ zur Fällung gekommen war. Reagiert der Harn sauer, so wird er mit einigen Kubikzentimetern einer 5proz. Lösung von Natriumcarbonat deutlich alkalisch gemacht und hierauf in einem 250 ccm fassenden Erlenmeyerkolben aus dickem Glase vor der Wasserstrahlpumpe bei etwa 50° abgedampft, bis der Rückstand unbeweglich ist. Bevor der Kolben in das Wasserbad gestellt wird, soll das Wasser der Pumpe 5 bis 10 Minuten bei Zimmertemperatur laufen, um ein zu starkes Kochen zu verhindern. Nachdem der Harnrückstand unbeweglich geworden ist, wird er mit einem im stumpfen Winkel gebogenen Glasstabe umgerührt, und hierauf der Kolben samt dem Glasstabe auf eine halbe Stunde in einen geräumigen Vakuumexsikkator über Schwefelsäure gestellt, da es von großer Wichtigkeit ist, den Harnrückstand frei von Wasser zu machen. Hierauf wird der Harnstoff des eingedampften und von Wasser befreiten Urins mit 10 ccm Methylalkohol in Lösung gebracht, und diese Lösung mit 30 ccm Amylalkohol (A. amylicus purissimus) vermengt.

Um den Methylalkohol zu verjagen, wird der Kolben mit der Wasserstrahlpumpe verbunden, in ein Wasserbad von 40 bis 42° gestellt und das Wasser der Pumpe etwa eine halbe Stunde laufen gelassen. Die amylalkoholische Flüssigkeit wird dann in einen 50 ccm fassenden Meßzylinder gegossen, der Kolben noch zweimal mit einigen Kubikzentimetern Amylalkohol nachgewaschen und das Volumen der Extraktionsflüssigkeit genau auf 40 ccm gebracht. Davon werden nach gutem Umschütteln 20 ccm, entsprechend 10 bis 15 ccm Urin, abermals in einen 50 ccm fassenden Meßzylinder abfiltriert, mit 1 g wasserfreier Oxalsäure gut geschüttelt und mit

[1]) Natürlich überzeugte ich mich, daß eine derartige Extraktion des U+ eine vollkommene ist.

dem gleichen Volumen Oxalsäure-Äther (3 g wasserfreie Oxalsäure auf 100 ccm Äther) verdünnt. Nach einigen Stunden, bei Benutzung eines Kältegemisches schon nach einer Stunde, wird der oxalsaure Niederschlag auf einem Filter von 5 ccm Durchmesser gesammelt und mit 30 ccm Oxalsäure-Äther gewaschen[1]). In diesem Oxalat wird nun der Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt und aus dem erhaltenen Werte der Harnstoffgehalt in 100 ccm des verwendeten Urins berechnet.

Es ist durchaus nicht notwendig, für den erhaltenen $U^+$-Gehalt eine Korrektur anzuwenden. Das aus dem Urin gewonnene Oxalat ist nämlich nicht ganz rein; es löst sich in Wasser mit gelblicher Farbe und zeigt unter dem Mikroskop neben den rhombischen Tafeln und Prismen des oxalsauren $U^+$ noch unregelmäßige, baumförmige oder balkenförmige Gebilde. Ein geringfügiger Verlust an $U^+$ durch seine Fällung aus einer amylalkoholischen Lösung dürfte durch eine solche Verunreinigung ausgeglichen werden[2]). Wie schon erwähnt, bediente sich *Lippich* der quantitativen Fällung des Harnstoffs durch Oxalsäure, um die erhaltenen Werte mit $U^+$-Bestimmungen nach *Pflüger-Schöndorff* zu vergleichen, und kam auf Grund solcher Vergleiche zur Schlußfolgerung, daß der Harnstoffgehalt des menschlichen Harns durch die bisher gebräuchlichen indirekten Methoden der $U^+$-Bestimmung keineswegs wesentlich überschätzt worden ist. Mit einer solchen Schlußfolgerung steht jedoch das Ergebnis der *Lippich*schen Analyse I (l. c., S. 173) im Widerspruch. Da wir es bei dieser Analyse mit einem normalen Harn zu tun haben, so muß die Anzahl ähnlich beschaffener Urine eine unbegrenzte sein.

Bei diesem Harn war der $U^+$-Gehalt nach *Pflüger-Schöndorff* 1,638 Proz., nach dem Entfärben mit Tierkohle (12 g Tierkohle auf 500 ccm Urin) 1,59 Proz., also um 0,048 g weniger. Es ist jedoch keineswegs sicher, daß dieser Unterschied von 0,048 g durch Verlust von Harnstoff bedingt war. Nach *Cazeneuve* und *Hugouneng* entzieht das Behandeln des Harns mit Tierkohle ihm keinen Harnstoff, wie vergleichende Bestimmungen mit frischem und mit Kohle behandeltem ergaben[3]). In der Tat werden durch die Tierkohle in erster Reihe Farbstoffe, Salze und andere Substanzen festgehalten, wodurch der Harnstoff der Einwirkung der Tierkohle entzogen wird. Ebensowenig ist es sicher, daß dieser Unterschied von 0,048 Proz. nur 0,048 g Substanz entspricht, da die anderen stickstoffhaltigen Substanzen des

---

[1]) Natürlich muß auch der Meßzylinder mit den Überresten des oxalsauren Niederschlages mit Äther gewaschen werden.

[2]) Bei meinem Verfahren sind die Bedingungen für eine quantitative Fällung des Harnstoffs günstiger wie bei *Lippich*, da ich den Harnstoff aus 10 bis 15 ccm Urin fällte, während *Lippich* den $U^+$ nur aus 5 ccm Urin zur Fällung brachte.

[3]) *Neubauer* und *Vogel*, 10. Aufl., S. 813.

Urins bedeutend weniger Stickstoff enthalten als der Harnstoff. Es ist noch zu bemerken, daß die $U^+$-Bestimmung nach *Pflüger-Schöndorff* kleinere Werte gibt als die weit häufiger angewendete Methode von *Mörner-Sjöqvist*. Nach Analyse II (l. c., S. 164) zu urteilen, würden 1,638 Proz. Harnstoff nach *Pflüger-Schöndorff* etwa **1,702 Proz.** $U^+$ nach *Mörner-Sjöqvist* entsprechen. Den Werten nach *Mörner-Sjöqvist* stehen die Ergebnisse der $U^+$-Bestimmung mittels Bromlauge sehr nahe, besonders bei gemischter Kost[1]). Diese Methode wird ihrer leichten und raschen Ausführbarkeit halber in vielen Hospitälern und Laboratorien aller Länder angewendet[2]).

Somit haben wir es bei *Lippichs* Analyse I mit einem Urin zu tun, der nach *Mörner-Sjöqvist* und nach der $U^+$-Bestimmung mittels Bromlauge etwa 1,72 Proz. Harnstoff enthalten mußte. Die annähernd quantitative Fällung des Harnstoffs aus seiner amylalkoholischen Lösung mittels Oxalsäure zeigte jedoch bei diesem Urin einen $U^+$-Gehalt von nur 1,44 Proz. im Mittel. *Lippich* hat mit einer solch peinlichen Genauigkeit und Vorsicht seine Arbeit ausgeführt, daß ein nennenswerter Verlust an $U^+$ dabei nicht stattfinden konnte. Viermal fällte er den Harnstoff durch Oxalsäure und bekam Werte, die einander ganz nahe stehen, woraus die Schlußfolgerung erlaubt ist, daß der annähernd wirkliche Harnstoffgehalt dieses Urins nur 1,44 Proz., nicht aber 1,638, geschweige denn 1,72 Proz. war. Läßt sich da füglich behaupten, daß der $U^+$-Gehalt des menschlichen Harns durch die bisherigen Methoden der $U^+$-Bestimmung nicht wesentlich überschätzt werden kann? Selbst durch die Methode von *Pflüger-Schöndorff* wurde der Harnstoff bei Analyse I um 13,75 Proz. seines Wertes überschätzt, während die Überschätzung durch die Methode von *Mörner-Sjöqvist* oder durch die $U^+$-Bestimmung mittels Bromlauge etwa 19,4 Proz. betragen würde!

In Anbetracht solcher Tatsachen ist die $U^+$-Bestimmung mittels Fällung des Harnstoffs durch Oxalsäure in zweifacher Hinsicht geboten. Vor allem ist sie da angezeigt, wo es um exakte Forschung auf dem Gebiete des Stoffwechsels zu tun ist. In zweiter Reihe sollte jede Methode der $U^+$-Bestimmung mit den Resultaten der quantitativen Harnstofffällung verglichen werden, bevor sie auf Zuverlässigkeit Anspruch machen kann.

Will man sich nicht damit begnügen, den Stickstoff im oxalsauren Niederschlage zu bestimmen, so kann der Harnstoff selber ohne Verlust

---

[1]) *Camerer*, Zeitschr. f. Biol. **46**, 342.

[2]) Im neuesten (1922) russischen Lehrbuche der Diagnostik (*Plotneff* und *Lewin*) wird nur die $U^+$-Bestimmung mittels *Bromlauge* beschrieben und für klinische Zwecke empfohlen.

durch Neutralisierung der Oxalsäure dargestellt werden. Zu diesem Zwecke wird das Oxalat samt dem Filter in einen 100 ccm fassenden Meßzylinder mit breiter Öffnung gebracht, mit Hilfe eines langen Glasstabes mit 1,5 g Calciumcarbonat und 25 ccm Wasser vermengt, wobei auch der Überrest des Niederschlages im 50 ccm fassenden Meßzylinder in Lösung gebracht wird. Hierauf wird mit möglichst starkem Alkohol bis zur Marke aufgefüllt, nach gutem Umschütteln durch ein großes Filter rasch abfiltriert und 40 bis 50 ccm des Filtrats zur N-Bestimmung nach *Kjeldahl* verwendet.

Ich habe nach diesem Verfahren, also durch Fällung des Harnstoffs aus seiner amylalkoholischen Lösung und durch Neutralisierung der Oxalsäure, sechs Harnstoffbestimmungen in sechs verschiedenen normalen Urinen ausgeführt und gleichzeitig den $U^+$-Gehalt nach *Mörner-Sjöqvist* bestimmt. Die $U^+$-Darstellung, ebenso wie das Verfahren nach *Mörner-Sjöqvist*, wurden nur hier und da wiederholt, da es mir nur darauf ankam, die Resultate der $U^+$-Darstellung mit den Werten nach *Mörner-Sjöqvist* annähernd zu vergleichen, wobei es von keinem Belange war, ob in einem gegebenen Falle die Methode von *Mörner-Sjöqvist* den wirklichen $U^+$-Gehalt z. B. um 20 oder 22 Proz. überschätzte.

Obgleich *Lippich* durch seine Kontrollversuche zur Genüge bewiesen hatte, daß der Harnstoff im Amylalkohol durch wasserfreie Oxalsäure annähernd quantitativ gefällt wird, hielt ich es doch für notwendig, mich durch wenigstens zwei Versuche zu überzeugen, daß auch durch die Neutralisierung der Oxalsäure der Harnstoff keinen Schaden erleidet. Zu diesem Zwecke bereitete ich mir eine 2 proz. $U^+$-Lösung und bestimmte vor allem den N-Gehalt nach *Kjeldahl* in 5 ccm dieser Lösung. Verbraucht wurden 33,3 n/10 S, woraus sich ergab, daß 5 ccm dieser Lösung 0,0997 $U^+$ enthielten, was 1,994 Proz. $U^+$ entsprach.

Es galt nun festzustellen, wieviel Harnstoff von dieser 1,994 proz. Lösung durch Fällung in Amylalkohol mittels Oxalsäure und durch Neutralisierung des Oxalats zurückgewonnen werden konnte.

20 ccm der $U^+$-Lösung wurden mit Natriumcarbonat deutlich alkalisch gemacht und aus ihnen der Harnstoff in derselben Weise dargestellt, als handelte es sich um 20 ccm Urin. Ein Teil des Endfiltrats, entsprechend 4 ccm der ursprünglichen $U^+$-Lösung, wurde quantitativ in einen 250 ccm fassenden Erlenmeyerkolben gebracht, wobei möglichst wenig Alkohol zum Auswaschen des Meßzylinders gebraucht wurde, und vor der Wasserstrahlpumpe bei 45 bis 50° abgedampft. Der Rückstand wurde in 10 ccm Wasser gelöst, diese Lösung in einen Kjeldahlkolben, der mit 0,5 g Quecksilberoxyd beschickt war, gegossen, der Erlenmeyerkolben mit 15 ccm Schwefelsäure (4 Teile konzentrierter und 1 Teil rauchender Schwefelsäure) ausgewaschen, die vorsichtig zur $U^+$-Lösung zugefügt wurden; zum Schluß

wurde der Erlenmeyerkolben noch einmal mit 5 ccm Wasser nachgewaschen. Zuerst wurde bei nicht zu starker Flamme das Wasser verdampft, hierauf eine Stunde lang stark erhitzt, wobei die Öffnung des Kjeldahlkolbens mit einer Glasbirne verschlossen war. Der Rückstand wurde mit etwa 300 ccm Wasser in Lösung gebracht, in einen 1 Liter fassenden Kolben gespült, mit 40 ccm einer 10proz. Lösung von Kalium sulfuratum vermengt, und dieses Gemenge bis auf etwa die Hälfte seines Volumens eingekocht. Nach vollkommener Abkühlung der Flüssigkeit wurden in den Kolben 200 ccm einer annähernd 25proz. Lösung von Kalium causticum gebracht und der Kolben augenblicklich mit der Kjeldahlvorrichtung verbunden, die schon vorher mit 35 ccm n/10 S beschickt worden war. Verbraucht wurden 26,2 ccm n/10 S, was 1,962 g Harnstoff auf 100 ccm der ursprünglichen Harnstofflösung entsprach. *Somit wurden trotz der Neutralisierung des oxalsauren Niederschlages 98,39 Proz. des verwendeten Harnstoffs wiedergefunden.* In einer zweiten derartigen Fällungsanalyse wurden 98,5 Proz. des verwendeten $U^+$ zurückgewonnen.

Nachdem ich mir so die Gewißheit verschafft hatte, daß der oxalsaure Harnstoff ohne welchen Schaden neutralisiert werden kann, stellte ich den Harnstoff aus einer Reihe von normalen Harnen dar und bestimmte zu gleicher Zeit ihren $U^+$-Gehalt nach der Methode von *Mörner-Sjöqvist.*

Zu bemerken ist, daß bei der N-Bestimmung nach *Kjeldahl* die Lösung des dargestellten Harnstoffs beim Kochen mit Schwefelsäure öfters dunkel gefärbt wurde, so daß es 2 bis 3 Stunden dauerte, bis die Flüssigkeit im Kjeldahlkolben farblos wurde[1]). Ebenso machte ich die Beobachtung, daß beim Kochen des *Mörner-Sjöqvist*schen Rückstandes mit Schwefelsäure der Kolbeninhalt öfters ganz schwarz, sogar teerartig wurde. Wir finden diesbezüglich in *Neubauer* und *Vogels* „Analyse des Harns", S. 812, die Angabe, daß sich die Flüssigkeit (nämlich der wässerige Überrest des Alkoholätherfiltrats) bei der Oxydation mit Schwefelsäure nur infolge der Gegenwart von Alkohol schwarz färbt und dann nur langsam farblos wird; es sei deshalb vorteilhaft, die Abdampfung des Alkoholätherfiltrats möglichst weit zu treiben. Daß eine derartige Anschauung eine irrtümliche ist, kann durch zweierlei Versuche nachgewiesen werden. Wird ein Gemisch von Alkohol, Wasser und Schwefelsäure erhitzt, so bleibt die Flüssigkeit vollkommen farblos, wasserhell. Wird ferner das *Mörner-Sjöqvist*sche Alkoholätherfiltrat bis zur Trockne verdampft und erst dann mit Schwefelsäure erhitzt, so wird die Flüssigkeit schwarz, eventuell teerartig. Die Gegenwart von Alkohol spielt somit bei dieser Erscheinung keine Rolle. Bezeichnend ist in dieser Hinsicht *Lippichs* Beobachtung, daß die Harnrückstände nach *Mörner-Sjöqvist* bei einer Temperatur von 100° an offener Luft stark gelb gefärbt und sirupartig werden (l. c., S. 165).

[1]) Jedenfalls wurde nicht weniger als 2 Stunden mit Schwefelsäure gekocht.

Im folgenden gebe ich die Werte, die ich bei sechs vergleichenden $U^+$-Darstellungen und $U^+$-Bestimmungen nach *Mörner-Sjöqvist* erhielt.

1. Urin von 7 Uhr abends, spezifisches Gewicht 1020. Die $U^+$-Darstellung wurde zweimal ausgeführt und ergab 1,243 und 1,235 Proz. $U^+$, also im Mittel 1,239 Proz. $U^+$.

Nach *Mörner-Sjöqvist* war der $U^+$-Gehalt 1,5699 Proz., also in 100 ccm Urin um 0,3309 g mehr $U^+$ als nach dem Ergebnis der Darstellung. Somit ist der $U^+$-Gehalt von 1,239 Proz. bei diesem Urin durch die Methode von *Mörner-Sjöqvist* annähernd um 26,7 Proz. seines Wertes überschätzt worden[1]).

2. Urin von 11 Uhr abends, spezifisches Gewicht 1029. Die Darstellung ergab 2,62 Proz. $U^+$. Nach *Mörner-Sjöqvist* wurden zwei Bestimmungen gemacht; die eine zeigte 3,199 Proz., die zweite 3,187 Proz. $U^+$, woraus sich eine Überschätzung um 21,87 Proz. des wirklichen $U^+$-Gehaltes ergibt.

3. Harn von 9 Uhr morgens, spezifisches Gewicht 1014½. Nach der Darstellung 1,325 Proz., nach *Mörner-Sjöqvist* 1,633 Proz. Harnstoff, also eine Überschätzung um 23,24 Proz. des wirklichen Wertes.

4. Harn von 2 Uhr nachmittags, spezifisches Gewicht 1024. Die Darstellung zeigte 1,752 Proz., das Verfahren nach *Mörner-Sjöqvist* 2,133 Proz. $U^+$, was einer Überschätzung von 21,74 Proz. entspricht.

5. Morgenurin (erste Entleerung), spezifisches Gewicht 1021. Nach der Darstellung 2,32 Proz., nach *Mörner-Sjöqvist* 2,756 Proz. $U^+$, woraus sich eine Überschätzung von 18,75 Proz. des wirklichen $U^+$-Wertes ergibt. Diese Darstellung ist insofern von Bedeutung, da sie dem Resultat der *Lippich*schen Analyse I (l. c., S. 173) ganz nahe kommt. Bei dieser Analyse zeigt die $U^+$-Fällung durch Oxalsäure im Vergleich zur $U^+$-Bestimmung nach *Pflüger-Schöndorff* eine Überschätzung von 13,75 Proz. des wirklichen Harnstoffwertes. Wenn wir bei Darstellung 5 den Harnstoffgehalt nach *Mörner-Sjöqvist* in $U^+$ nach *Pflüger-Schöndorff* umrechnen (vgl. l. c., S. 164), so würde die Überschätzung auch nur 13,5 Proz. betragen.

6. Urin von 9 Uhr vormittags, spezifisches Gewicht 1031. Die Darstellung zeigte 2,217 Proz., die Methode nach *Mörner-Sjöqvist* 3,02 Proz. Harnstoff, also um 0,8 Proz. mehr $U^+$ als die Darstellung. Folglich wird bei diesem Urin durch die *Mörner-Sjöqvist*sche Methode der $U^+$-Gehalt um etwa 36,2 Proz. seines wirklichen Wertes überschätzt.

Um zu sehen, wie sich bei Urin 6 der wirkliche $U^+$ und der $U^+$ nach *Mörner-Sjöqvist* zum Gesamt-N verhalten, wurde der letztere nach *Kjeldahl* bestimmt und zeigte 1,6256 g N in 100 ccm Urin. Hieraus ergibt sich, daß bei Urin 6 der Harnstoff-N nach *Mörner-Sjöqvist* 86,65 Proz., hingegen der N des dargestellten $U^+$ nur 63,7 Proz. des Gesamt-N beträgt. Ich muß betonen, daß dieser Harn, wie auch die vorhergehenden, vollkommen normal war.

7. Dieser Urin stammte von derselben Person wie Urin 6, wurde jedoch an einem anderen Tage, und zwar um 8 Uhr abends, geliefert. Bei diesem Urin machte ich eine Bestimmung des Gesamt-N nach *Kjeldahl*

---

[1]) $1{,}239 : 0{,}3309 = 100 : x$.

und eine Darstellung des Harnstoffs. Das Kjeldahlverfahren zeigte 1,083 g Stickstoff in 100 ccm Urin, die Darstellung 1,48 Proz. U+. Folglich entfielen vom gesamten N des Harns 64,3 Proz. auf den Harnstoff-N, was dem Resultat der Analyse 6 sehr nahe kommt.

Wie das Oxalat, ist auch der dargestellte Harnstoff nicht ganz rein, weshalb es nicht notwendig sein dürfte, die gefundenen Werte für U+ um 1,5 Proz. zu vergrößern.

Diese vergleichenden Darstellungen und Bestimmungen nach *Mörner-Sjöqvist* beweisen zur Genüge, daß der $U^+$-Gehalt des menschlichen Harns durch die indirekten Methoden der $U^+$-Bestimmung wesentlich überschätzt werden kann. Es handelt sich hier keineswegs um eine nebensächliche Erscheinung, vielmehr ist die $U^+$-Überschätzung von biologischer, eventuell pathologischer Bedeutung, wie im folgenden dargelegt werden soll.

Die Überschätzung des $U^+$-Gehaltes steht in engem Zusammenhange mit der Fähigkeit des alkoholischen Extraktes aus dem menschlichen Urin, übermangansaures Kali bei Zimmertemperatur zu zersetzen. Der Grad dieser Desoxydationskraft des Alkoholextraktes kann auf folgende Weise bestimmt werden:

5 ccm Urin werden bei etwa 50 bis 52° vor der Wasserstrahlpumpe abgedampft[1]) und hierauf mit kaltem, absolutem Alkohol extrahiert. Zuerst wird der Rückstand mit 10 ccm Äthylalkohol verrieben, die alkoholische Flüssigkeit durch ein kleines, mit Alkohol durchtränktes Filter filtriert und die Extraktion in derselben Weise noch zweimal mit je 5 ccm Alkohol wiederholt. Das alkoholische Filtrat wird an offener Luft auf dem Wasserbade bei etwa 45° in einer Schale von bekanntem Gewicht abgedampft und der neue Rückstand so lange im Exsikkator über Schwefelsäure gelassen, bis er fest oder wachsförmig geworden ist, was öfters schon nach einigen Minuten der Fall ist. Hierauf wird der Alkoholextrakt gewogen und mit Wasser in einen 100 ccm fassenden Kolben gespült. Zu dieser wässerigen Lösung des Alkoholextraktes werden so viel Kubikzentimeter einer 1proz. Permanganatlösung zugefügt, als das Gewicht des Alkoholextraktes in Zentigrammen beträgt, worauf bis zur Marke aufgefüllt wird. Nach 24 Stunden wird abfiltriert und festgestellt, wie viel Kubikzentimeter $KMnO_4$-Lösung noch nicht zersetzt worden sind. Dies geschieht am einfachsten in der Weise, indem man 1 ccm einer 1proz. Permanganatlösung bis zum erwünschten Farbenton verdünnt und berechnet, wie oft das Volumen dieser verdünnten Lösung in 100 ccm enthalten ist; der Quotient entspricht der Anzahl noch nicht zersetzter Kubikzentimeter $KMnO_4$-Lösung.

Wie verschieden stark die Alkoholextrakte aus dem menschlichen Urin das Kaliumpermanganat zersetzen, ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

---

[1]) Der Urin kann auch an offener Luft abgedampft werden, falls eine Wasserstrahlpumpe nicht zur Verfügung steht.

| Nr. | Spezifisches Gewicht des Urins | Tageszeit, wann der Urin gelassen wurde | Gewicht des alkoholischen Extraktes in cg für 10 ccm Harn | Verhältniszahl für das zersetzte $KMnO_4$; der Alkoholextrakt = 100 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1014 | Morgenurin | 28 | 51,7 |
| 2 | 1017 | 4 Uhr nachmittags | 21 | 71,4 |
| 3 | 1028 | 8 Uhr abends | 55 | 32,7 |
| 4 | 1022 | 24 stündiger Harn | 27 | 85,1 |
| 5 | 1026½ | Morgenharn | 46 | 52,1 |
| 6 | 1028 | " | 35 | 91,4 |
| 7 | 1028 | 5—11 Uhr abends | 29 | 79,3 |
| 8 | 1024 | Abendurin | 24 | 79,1 |
| 9 | 1020 | 5 Uhr nachmittags | 30 | 73,3 |
| 10 | 1021 | Abendurin | 43 | 75,5 |
| 11 | 1020½ | " | 26 | 94,2 |
| 12 | 1031 | 9 Uhr vormittags | 40,6 | 73,8 |
| 13 | 1009 | Morgenharn | 12 | 50 |
| 14 | 1020 | 7 Uhr abends | 19 | 57,8 |

Am deutlichsten ist aus Urin Nr. 3 und 11 ersichtlich, wie verschieden stark die Alkoholextrakte aus verschiedenen Urinen das Kaliumpermanganat zersetzen können. Während bei Urin Nr. 3 die Verhältniszahl des verbrauchten Permanganats 32,7 ist, wird bei Urin Nr. 11 durch 100 Gewichtsteile Alkoholextrakt die große Menge von 94,2 Gewichtsteilen $KMnO_4$ desoxydiert[1])! Natürlich sind zahlreiche Untersuchungen erforderlich, um die biologische und klinische Bedeutung dieser Eigenschaft des Alkoholextraktes zu ermitteln. Die Zersetzung des Kaliumpermanganats durch den äthylalkoholischen Extrakt des Harns steht in direktem Verhältnis zur Überschätzung des U+-Gehaltes. Von den sieben Harnen, bei denen ich den Harnstoff quantitativ darstellte, habe ich aus Urin 1 und 6 ihre alkoholischen Extrakte bereitet und geprüft, wieviel $KMnO_4$ sie in 24 Stunden bei Zimmertemperatur zersetzen. Bei Urin 1 erhielt ich eine Verhältniszahl von 57,8 (s. Harn Nr. 14 der Tabelle); der Harnstoff war um 26,7 Proz. seines Wertes überschätzt. Bei Urin 6 war die Verhältniszahl 73,8 (vgl. Tabelle, Urin Nr. 12). Eine einfache Berechnung zeigt, daß der Analyse 1 entsprechend bei Harn 6 die U+-Überschätzung etwa 34 Proz. betragen müßte. In der Tat ergab die U+-Darstellung, wie aus Analyse 6 ersichtlich, eine Überschätzung von 36,2 Proz. des wirklichen Harnstoffwertes.

Eine nähere Erklärung des Zusammenhanges zwischen der Desoxydationskraft der Alkoholextrakte und der U+-Überschätzung wird in meiner nächsten Arbeit erfolgen.

---

[1]) Zu bemerken ist, daß dieser Urin, wie auch die anderen Urine der Tabelle, beim Kochen mit *Fehling*scher Lösung keinen roten Niederschlag von Kupferoxydul gaben. Nr. 11 stammte von einem gesunden, gut genährten 70jährigen Manne (bei gemischter Kost), während Harn Nr. 3 von einem anämischen Manne geliefert wurde, der seit vielen Jahren an einem Bandwurm litt.

# Untersuchungen über Physiologie und Pharmakologie des Purinhaushalts.

VII. Mitteilung.

**Beeinflussung des Purinhaushaltes durch Sulfate.**

Von

**Emil Stransky.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

*(Eingegangen am 6. Oktober 1923.)*

Mit 1 Abbildung im Text.

Die letzte Mitteilung (VI.) aus dem hiesigen Institut über Beeinflussung des Purinhaushaltes betraf den Befund, daß den natürlichen Mineralwässern vom Typus des Karlsbader Mineralwassers eine deutliche Wirkung auf den Purinhaushalt zukommt, und zwar: 1. eine *einschränkende* Wirkung auf den Purin*stoffwechsel*, deren Ausdruck eine Verminderung der Allantoinausscheidung beim Kaninchen ist, 2. eine *Ausscheidungswirkung* auf die Harnsäure beim Menschen, wobei die erstgenannte, einschränkende Wirkung auf den Purinstoffwechsel beim Menschen zunächst verdeckt wird[1]).

Diese systematischen Untersuchungen wie auch die vorliegenden fußen auf den von *Wiechowski* formulierten Postulaten, daß die Beurteilung einer Wirkung von Stoffen und physikalischen Heilmethoden auf den Purinhaushalt nur dann möglich ist, wenn einerseits die Ausscheidung des Allantoins als Endprodukt des Purinstoffwechsels beim *Säugetiere* und andererseits die Ausscheidung der Harnsäure als dem Endprodukt des Purinstoffwechsels beim *Menschen* studiert wird. Hierzu kommt noch gegebenenfalls eine Untersuchung des Verhaltens der Harnsäure im Blute. Nur eine solche systematische Untersuchung vermag darüber Aufschluß zu geben, ob eine durch ein Pharmakon verursachte Mehrausscheidung von Harnsäure im Harn des Menschen durch vermehrte Bildung bedingt ist oder durch eine Beeinflussung der *Ausscheidung* der Harnsäure durch die Nieren bzw., wie es *Thannhauser* jüngst formuliert hat, des *Konzentrationsvermögens* der Niere für Harnsäure. Das Verhalten des Harnsäurespiegels im Blute kann

[1]) Diese Zeitschr. **133**, 446, 1922.

dann noch die Entscheidung herbeiführen, ob die beobachtete Wirkung eine reine Nierenwirkung ist, oder ob es sich um eine Mobilisierung der schon physiologisch vorhandenen Harnsäuredepots in den Geweben handelt.

Die vorliegende Mitteilung soll über Versuche berichten, welche eine weitere Analyse der bei der Tränkung mit Karlsbader Mineralwasser beobachteten und eingangs erwähnten Wirkungen auf den Purinhaushalt zum Ziele hatten. Unter Berücksichtigung der ebenfalls im hiesigen Institut gefundenen Tatsache, daß gewisse Wirkungen des Karlsbader Mineralwassers auf den tierischen Organismus zumindest qualitativ gleich auch durch *Sulfate* verursacht werden können, nämlich eine Besserung der Stickstoffbilanz und eine Besserung der Phosphatbilanz bei mit reiner Haferkost ernährten Kaninchen, habe ich zunächst die Wirkung von *Sulfaten* auf den Purinhaushalt studiert.

## I. Kaninchenversuche.

Die Versuchsbedingungen und die Methodik der Allantoinbestimmungen waren prinzipiell die gleichen, wie sie in der letzten Mitteilung ausführlich dargelegt wurden. Die Tiere wurden bei reiner Haferkost zunächst 5 Tage mit Prager Leitungswasser getränkt, sodann zweimal je 5 Tage mit einem Sulfatgemenge und zum Abschluß wiederum 5 Tage mit Leitungswasser. Das als Tränkungsflüssigkeit gereichte Sulfatgemenge hatte die molare Konzentration des Karlsbader Mineralwassers, ungefähr die Hälfte jener, welche die physiologischen Nährlösungen für Warmblütler haben, rund 170 Millimol. Die Kationen Kalium, Natrium, Magnesium und Calcium waren in dem gegenseitigen Verhältnis zueinander vertreten, wie es in der *Tyrode*schen Nährlösung vorliegt, alle als Sulfate, nur das Calcium wurde als Acetat zugesetzt, da es als Sulfat zu schwer löslich schien und das Acetation im Organismus verbrannt wird. Der gewichtsanalytisch festgestellte Sulfatgehalt dieses Gemisches betrug 6,597 g $SO_4$ im Liter, weitaus mehr, als der des Karlsbader Mineralwassers, das nur 1,7 g im Liter enthält. Von den zwei Kaninchen, welche diesem Versuche unterzogen wurden, scheidet eins aus der kritischen Betrachtung aus, weil es während der Versuchsdauer erkrankte, schnelle Gewichtseinbußen erlitt und fast vollkommen die Freßlust verlor. Es ging wenige Tage nach Beendigung des Versuches ein. Das zweite Tier verhielt sich hingegen während der ganzen Versuchsdauer und viele Tage nachher vollkommen normal, wie dies mit den Erfahrungen bei derartigen Untersuchungen im hiesigen Institut übereinstimmt. Das Tier erlitt keinen nennenswerten Gewichtsverlust trotz der einseitigen Ernährung und trank willig das gereichte Sulfatgemenge. Die folgende tabellarische Zusammenstellung der Versuchsdaten zeigt deutlich, daß *den Sulfaten eine einschränkende Wirkung auf den Purinstoffwechsel eigen ist.*

Es sei nur noch erwähnt, daß am 12. Tage nach Beendigung der Normalnachperiode die 24stündige Allantoinausscheidung 0,1376 g betrug, demnach den Ausgangswert nahezu wieder erreicht hatte, und daß von einer Darmwirkung während der ganzen Versuchsdauer nicht viel zu sehen war, nur am Tage nach der ersten Sulfattränkung entleerte das Tier einen weichen, nicht zu Brocken geformten Kot.

*Tabelle I.*

| Periode | Tage | Körpergewicht g | Harn ccm | Kot, feucht g | Kot, trocken g | Hafer g | Wasser ccm | Allantoin g | Allantoin Tagesdurchschnitt g | Tränkungsflüssigkeit |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | 1 | 2175 | 115 | 50 | — | 120 | 160 | 0,1597 | — | Leitungswasser |
| | 2 | 2170 | 135 | 40 | — | 92 | 144 | 0,1552 | — | |
| | 3 | 2100 | 82 | 35 | — | 86 | 100 | 0,1517 | — | |
| | 4 | 2070 | 125 | 32 | — | 95 | 190 | 0,1459 | — | |
| | 5 | 2100 | 95 | 25 | — | 83 | 150 | 0,1353 | — | |
| Summe . . | | | 552 | 187 | 164 | 476 | 744 | 0,7478 | 0,150 | |
| 2. | 6 | 2110 | 165 | 47 | — | 80 | 225 | 0,1303 | — | Sulfatgemisch |
| | 7 | 2110 | 160 | 45 | — | 90 | 185 | 0,1418 | — | |
| | 8 | 2090 | 140 | 60 | — | 87 | 170 | 0,1400 | — | |
| | 9 | 2040 | 120 | 65 | — | 87 | 140 | 0,1416 | — | |
| | 10 | 1970 | 130 | 23 | — | 73 | 185 | 0,1335 | — | |
| Summe . . | | | 715 | 240 | 170 | 417 | 905 | 0,6872 | 0,137 | |
| 3. | 11 | 1960 | 104 | 38 | — | 85 | 175 | 0,1142 | — | Sulfatgemisch |
| | 12 | 1970 | 130 | 40 | — | 80 | 185 | 0,1298 | — | |
| | 13 | 1960 | 100 | 35 | — | 75 | 150 | 0,1313 | — | |
| | 14 | 1950 | 133 | 23 | — | 75 | 220 | 0,1259 | — | |
| | 15 | 1965 | 170 | 23 | — | 85 | 215 | 0,1285 | — | |
| Summe . . | | | 637 | 159 | 124 | 400 | 945 | 0,6297 | 0,126 | |
| 4. | 16 | 1960 | 140 | 40 | — | 85 | 220 | 0,0964 | — | Leitungswasser |
| | 17 | 1980 | 105 | 30 | — | 80 | 150 | 0,0927 | — | |
| | 18 | 1955 | 150 | 25 | — | 85 | 240 | 0,1102 | — | |
| | 19 | 2000 | 150 | 25 | — | 80 | 230 | 0,0955 | — | |
| | 20 | 2005 | 145 | 27 | — | 75 | 215 | 0,1026 | — | |
| Summe . . | | | 690 | 157 | 124 | 405 | 1055 | 0,4974 | 0,100 | |

## II. Versuche am Menschen.

Auch bei diesen wurde prinzipiell dieselbe Methode eingehalten, wie bei den analogen Versuchen der letzten Mitteilung. Versuchsperson war wiederum der Verfasser. Nach dreitägiger Vorbereitung bei vollkommen purinfreier Kost und Abstinenz von purinhaltigen Getränken wurde im Nüchternzustande (letzte Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme 10 Stunden zurückliegend) die Harnsäureausscheidung im Harn in 2 Normalstunden festgestellt, sodann 1 Liter des bei den Kaninchenversuchen beschriebenen Sulfatgemisches, auf 40° C erwärmt, innerhalb einer Stunde getrunken. In den darauf folgenden 10 Stunden wurde die Harnsäureausscheidung im Harn stündlich bestimmt. Wegen des negativen Ausfalles dieses Versuches, soweit er eine Beeinflussung der Harnsäureausscheidung betrifft, habe ich etwa 1 Woche später den Versuch unter den gleichen Bedingungen wiederholt.

Tabelle II enthält die gewonnenen Versuchsdaten beider Versuche, aus welchen hervorgeht, daß *Sulfate keine Ausscheidungswirkung auf die Harnsäure haben.* Es sei noch bemerkt, daß an keinem Tage eine abführende Wirkung zu sehen war, die Stuhlentleerungen blieben vollkommen normal geformt, wie vorher. Bei dem Versuche 2 wurde in den stündlichen Harn-

portionen auch die H-Ionenkonzentration nach der kolorimetrischen Methode von *Leonor Michaelis* bestimmt und ergab, wie aus der Tabelle ersichtlich, eine bald auftretende, kurz dauernde Verminderung der H-Ionen, eine Beobachtung, die mit den Literaturangaben über die Beeinflussung der Harnacidität durch Sulfate nicht im Einklange steht.

*Tabelle II.*

| | Versuch 1. | | | Versuch 2. | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Zeit | Harn | Harnsäure | | Harn | Harnsäure | | $p_H$ | |
| | ccm | mg | mg-Proz. | ccm | mg | mg-Proz. | | |
| 6—7 | 21 | 16,2 | 77 | 24 | 18,1 | 76 | 5,8 | |
| 7—8 | 25 | 16,2 | 65 | 29 | 21,2 | 73 | 5,8 | |
| 8—9 | 24,5 | 18,2 | 74 | 32 | 22,5 | 70 | 5,8 | 1 Liter Sulfatgem. getrunken |
| 9—10 | 40 | 15,3 | 38 | 40 | 20,9 | 52 | 6,0 | |
| 10—11 | 232 | 14,4 | 6 | 222 | 19,5 | 9 | 6,2 | |
| 11—12 | 115 | 12,7 | 11 | 122 | 20,5 | 17 | 6,0 | |
| 12—1 | 48 | 11,5 | 24 | 122 | 20,5 | 17 | 5,8 | |
| 1—2 | 35 | 11,0 | 31 | 54 | 16,5 | 31 | 5,8 | |
| 2—3 | 29 | 11,7 | 40 | 34 | 14,5 | 43 | 5,6 | |
| 3—4 | 35 | 12,0 | 34 | 56 | 15,7 | 28 | 5,8 | |
| 4—5 | 45 | 15,3 | 34 | 76 | 17,8 | 23 | 5,6 | |
| 5—6 | 20 | 11,0 | 55 | 31 | 11,3 | 36 | 5,6 | |
| in 12 Std. Summe | 670 | 165 | — | 835 | 219 | — | — | |

Schließlich habe ich auch noch den in der letzten Mitteilung referierten Versuch mit Karlsbader Mineralwasser an Ort und Stelle mit quellwarmem Wasser unter denselben Bedingungen und mit derselben Methodik wiederholt. Tabelle III enthält die Versuchsdaten, aus denen hervorgeht. daß im großen und ganzen der im Vorjahre erhobene Befund einer *Ausscheidungswirkung* des Karlsbader Mineralwassers auf die Harnsäure im Harn bestätigt wird, nur hinsichtlich der diuretischen Wirkung ist der Versuch mit dem „Quell-

*Tabelle III.*

| Zeit | Harn | Harnsäure | | $p_H$ | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ccm | mg | mg-Proz. | | |
| 6—7 | 22 | 13,7 | 62 | 5,8 | |
| 7—8 | 29 | 16,2 | 56 | 5,8 | |
| 8—9 | 32 | 16,0 | 50 | 5,6 | |
| 9—10 | 163 | 25,4 | 15,6 | 6,5 | 1 Liter Karlsbader Mineralwasser, quellwarm |
| 10—11 | 420 | 24,4 | 6 | 6,8 | |
| 11—12 | 130 | 20,8 | 15,6 | 7,2 | |
| 12—1 | 66 | 18,9 | 29 | 7,0 | |
| 1—2 | 58 | 19,1 | 33 | 6,8 | |
| 2—3 | 45 | 18,4 | 41 | 6,4 | |
| 3—4 | 34 | 15,7 | 46 | 6,0 | |
| 4—5 | 28 | 15,2 | 54 | 5,8 | |
| 5—6 | 22 | 14.2 | 65 | 5,8 | |
| in 12 Std. Summe | 1049 | 218 | — | — | |

wasser" anders ausgefallen als mit dem „Versandwasser". Während nämlich 1 Liter Versandwasser eine verhältnismäßig geringe Vermehrung des Harnvolumens zur Folge hatte, wirkte das Quellwasser stark harntreibend. Noch nicht veröffentlichte Versuche von *Starkenstein* aus dem hiesigen Institut machen es wahrscheinlich, daß der größere Gehalt an freier Kohlensäure im „Quellwasser" die Ursache für diese Differenz in der Wirkung ist.

Die beigefügte graphische Darstellung der gleichartig angelegten Versuche mit Leitungswasser, Karlsbader Versandwasser und Karlsbader Quellwasser läßt diese Verhältnisse deutlich zur Anschauung kommen.



Abb. 1. Verlauf der Harnsäurekonzentration im Harn. ——— nach 1 Liter Leitungswasser, ······· nach 1 Liter Karlsbader „Versandwasser" und — —— n. 1 Liter Karlsbader „Quellwasser" in mg-Proz. (Ordinaten) und Stunden (Abszisse 2 Stunden). Die Einnahme erfolgte nach Schluß der zweiten Stunde.

**Zusammenfassung.**

Die Zusammenfassung der Versuchsergebnisse am Kaninchen und am Menschen ergibt, mit Berücksichtigung der in der letzten Mitteilung (VI.) über diesen Gegenstand dargelegten früheren Ergebnisse:

1. *Sulfate haben eine einschränkende Wirkung auf den Purinstoffwechsel.* Diese äußert sich beim Kaninchen in einer die chronische Zufuhr überdauernden Verminderung der täglichen Allantoinausfuhr. Die gleichartige Wirkung des Karlsbader Mineralwassers ist als eine Sulfatwirkung aufzufassen. Ob diese Wirkung eine *reine* Sulfatwirkung ist, oder ob es sich um eine durch andere in dem natürlichen Gemisch des Mineralwassers vorkommende Substanzen modifizierte Sulfatwirkung handelt, welche mutmaßlich über die von *Sgalitzer* festgestellte Änderung des Kalkbestandes bei Tränkungsversuchen geht, sollen weitere Untersuchungen klarstellen.

2. Das Karlsbader Mineralwasser hat eine *Ausscheidungswirkung* auf die Harnsäure, unabhängig von dem Umstande, ob gleichzeitig eine Harnflut eintritt oder nicht. Es vermag also unter Umständen die *Konzentrationsfähigkeit der Nieren für Harnsäure* zu verbessern. Diese Wirkung ähnelt der des Atophans und ähnlicher Präparate.

3. *Sulfate haben im akuten Stundenversuche keine Wirkung auf die Ausscheidung von Harnsäure im Harn.*

**Literatur.**

*Sgalitzer*, Zeitschr. f. Balneol. **7**, 1, 1914. — *Stransky*, diese Zeitschr. **122**, 1, 1921; **133**, 446, 1922. — *Thannhauser* und *Hemke*, Klin. Wochenschr. **2**, 65, 1923. — *Wiechowski* bei *Starkenstein*, diese Zeitschr. **106**, 139, 1920.

# Über die Wirkung von Salzen auf die Gallensekretion[1].

Von

**Emil Stransky.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

*(Eingegangen am 6. Oktober 1923.)*

Mit 9 Abbildungen im Text.

## I.

In früheren Untersuchungen aus dem hiesigen Institut (*Sgalitzer*, *Stransky*) wurde vielfach die Beobachtung gemacht, daß Kaninchen, welche bei ausschließlicher Haferdiät gehalten wurden, trotz dieser einseitigen, unzweckmäßigen Ernährungsweise unter gleichzeitiger Tränkung mit Karlsbader Mineralwasser bzw. ähnlich zusammengesetzten Salzgemischen besser gediehen und eine bessere Ausnutzung der Nahrung zeigten (N-Bilanzen) als mit gewöhnlichem Leitungswasser getränkte Kontrolltiere. Es lag daher die Annahme einer Wirkung der verabreichten Salze auf die Verdauungsdrüsen nahe und führte zunächst zu den vorliegenden Versuchen über das Verhalten der Gallensekretion unter dem Einfluß von Salzen.

Die überaus zahlreichen Versuche über die Beeinflussung der Gallensekretion, welche in der Literatur niedergelegt sind, zeitigten kein einheitliches, sondern ein höchst widerspruchsvolles Ergebnis, wie insbesondere das experimentelle Material über die Beeinflussung der Gallensekretion durch Pharmaka. Es ist zweifellos die Art der bisher verwendeten Methodik hierfür in erster Linie verantwortlich zu machen. Die meisten Versuche wurden an Hunden mit Dauerfisteln ausgeführt. Wenn auch von jenen Versuchen abgesehen wird, bei denen eine Entleerung der *Blasengalle* ausgeschlossen worden ist, was eine Vermehrung der Sekretion vortäuschen kann, so leiden doch auch die übrigen Experimente an dem grundsätzlichen Fehler, daß durch die Fisteln die Galle dauernd abgeleitet und dem Stoffwechsel, insbesondere der Leber, entzogen wird. *Pawlow* und seiner Schule war diese Tatsache wohl

[1]) Auszugsweise in der Sitzung der biologischen Sektion des „Lotos“ in Prag am 15. Februar 1923 vorgetragen.

bewußt, und es ist bezeichnend, daß in der großen Monographie *Babkins* „Über die äußere Sekretion der Verdauungsdrüsen“, diejenige der Leber in wenigen Sätzen erledigt wird.

Dieser Mangel haftet insbesondere den Versuchen mit Dauerfisteln an. Nach den Literaturangaben ist bei diesen Tieren im Anschluß an die Operation einige Zeit noch eine dauernde Sekretion zu beobachten, welche aber bald versiegt und dann nur auf Reize hin, insbesondere den Nahrungsreiz, ausgelöst wird. Nach den Versuchen von *Schiff* und *Rutherford*, deren Ergebnisse ich bestätigen kann, sezernieren auch Fleischfresser, wie Hunde und Katzen, im Nüchternzustande dauernd Galle, eine Sekretion, die allerdings von der Wiederresorption der sezernierten Galle abhängig zu sein scheint. In dem Maße, als die sezernierte Galle dauernd abfließt, sinkt bei hungernden Hunden mit akuten Choledochusfisteln mit und ohne Abbindung des Ductus cysticus die pro Zeiteinheit sezernierte Gallenmenge dauernd.

Die dauernde Ableitung der sezernierten Galle nach außen führt zweifellos zu einer Veränderung der Gallensekretion: dies geht aus den Erfahrungen an Tieren mit Dauerfisteln hervor, bei denen, wie schon oben gesagt, die anfängliche Sekretion bald versiegt und nur auf Reize hin wieder zum Vorschein kommt; ferner aus den Erfahrungen von *Rutherford*, *Bürker*, *Neubauer*, daß bei akuten Fisteltieren die sezernierte Gallenmenge dauernd absinkt, während ich feststellen konnte, daß die Gallensekretion bei Kaninchen für viele Stunden konstant bleibt, wenn die in kurzen Perioden sezernierte Galle in den Darm zurückgebracht wird. Die Leber braucht also die Rückresorption der produzierten Galle für ihren normalen Betrieb. Eine Steigerung der Sekretion an sich führt damit zu ihrer eigenen Verstärkung bzw. Verlängerung. Fällt aber die Rückresorption weg, so können leicht Wirkungen geringeren Grades durch Wegfall dieser physiologischen Verstärkungen nicht zum Ausdruck kommen und so der Beobachtung entgehen. Insbesondere dann, wenn eine Wirkung aus einem minder steilen oder verzögerten Verlaufe der Abfallkurve erschlossen wird.

Wenn gesagt wurde, daß auch Fleischfresser dauernd Galle sezernieren, so ist damit nicht gemeint, daß dauernd Galle in den Darm entleert wird. Wahrscheinlich nimmt bei diesen Tieren die Blase zumindest einen Teil der sezernierten Galle auf und entleert sie bei Einsetzen der Verdauung, während bei Kaninchen und anderen Pflanzenfressern die Galle dauernd in den Darm abfließt und die Gallenblase stets prall gefüllt ist; bei Fleischfressern dagegen soll sie nach der Verdauungsarbeit leer sein.

Wie aus den weiter unten mitgeteilten Normalversuchen in Übereinstimmung mit den bisherigen Erfahrungen hervorgeht, sinkt beim Kaninchen die Gallenproduktion stetig ab, wenn die Galle nach außen

abgeleitet wird. Bringt man dagegen die produzierte Galle in regelmäßigen Abständen ins Duodenum zurück, so hält sich die Gallensekretion für mehrere Stunden auf der gleichen Höhe, und man wird den physiologischen Verhältnissen um so näher kommen, je kürzer man die Messungsperioden wählt. Das Ideal wäre zweifellos ein dauernder Rückfluß der entleerten Galle in den Darm, eine Methode, die unter Einschaltung eines Tropfenzählers wohl die Geschwindigkeit der Sekretion zu messen gestatten würde, wobei aber die wichtigen Untersuchungen auf Trockensubstanz usw. nahezu unmöglich gemacht wären.

Das Gesagte gilt auch für das Meerschweinchen, und nach den Versuchen von *Schiff* und *Rutherford* auch für den Hund. Stellt doch die Galle selbst das mächtigste Cholagogum dar und führt beim physiologischen Geschehen einen dauernden Kreislauf aus, indem sie nach Entleerung in den Darmkanal zum größten Teile wieder rückresorbiert wird.

Unter diesen Umständen schien es für das Studium der Gallensekretion notwendig, das bisherige Vorgehen der dauernden Ableitung zu verlassen und an Tieren zu arbeiten, deren Gallenzirkulation möglichst wenig gestört war. Ich wählte dazu das Kaninchen, da die oben angeführten Salzwirkungen bzw. Mineralwasserwirkungen eben an diesen Tieren festgestellt worden sind. Die Kaninchen haben außerdem gegenüber Hunden den Vorzug, daß sie sich sozusagen immer im Zustande der Verdauung befinden und daher kontinuierlich eine lebhafte Gallenproduktion haben, eine Tatsache, die *Bürker* und *Neubauer* schon betonten. Wenn auch nach den Versuchen von *Rutherford* bei Fleischfressern eine ähnliche kontinuierliche Gallensekretion zu beobachten ist, muß man trotzdem *Bürker* recht geben, daß das weitaus zweckmäßigste Versuchstier das Kaninchen ist. Ein Vergleich der bei *Rutherford* angegebenen Sekretionsgeschwindigkeiten beim Hunde mit den von den oben genannten Forschern beim Kaninchen beobachteten ergibt eine mindestens doppelt so schnelle Gallensekretion bei Kaninchen als bei nüchternen Hunden. Die gleiche Beobachtung konnte ich machen, wiewohl ich nur über einen Versuch am Hunde verfüge. Es ist zweifellos, daß hierfür die Verdauungstätigkeit maßgebend ist, welche bei dem nüchternen Hunde fehlt, beim Kaninchen dauernd ist. Der Unterschied wird noch deutlicher, wenn man das weitaus größere Körpergewicht der Hunde in Berücksichtigung zieht. Noch langsamer scheint nach einem Versuche, den ich angestellt habe, die Gallensekretion nüchterner Katzen zu sein, die sich in kurzen Perioden von 15 bis 20 Minuten überhaupt nicht messen ließ. Einige wenige Versuche habe ich auch an Meerschweinchen ausgeführt, welche wohl auch eine lebhafte Gallensekretion aufweisen, sie eignen sich

jedoch für länger dauernde Versuche weniger als die Kaninchen, weil sie rascher zugrunde gehen.

Es zeigte sich, daß sich die gewonnenen Resultate leicht reproduzieren lassen und daher statistisch gesichert werden können. Allerdings ist auch hier die Einschränkung zu machen, daß gelegentlich doch auch Tiere vorkommen, welche auf sonst regelmäßig wirkende Reize nicht reagieren. Dabei ist aber gleichzeitig die Möglichkeit einer Kontrolle gegeben. Als regelmäßig wirksam erwies sich die intravenöse Injektion von Galle und von Histaminchlorhydrat. Wenn nach einem negativ verlaufenen Versuche auch diese beiden Substanzen keine Steigerung der Gallensekretion auszulösen vermögen, so ist man berechtigt, das Tier als ungeeignet zu bezeichnen und den Versuch zu verwerfen. Worauf dieses refraktäre Verhalten zurückzuführen ist, konnte nicht festgestellt werden. Die Art der Ernährung scheint nicht die Ursache zu sein, da sich solche Tiere sowohl unter jenen fanden, die ausschließlich mit Grünfutter (Rübe) ernährt wurden, als auch unter jenen, denen ausschließlich Hartfutter (Hafer) gereicht wurde; auch die Größe der normalen Gallenproduktion in der Zeiteinheit scheint nicht maßgebend zu sein. Vielleicht spielt die Narkose eine Rolle, oder der Operationsschock. Möglicherweise kommt hierfür auch die Beobachtung von *Rutherford* in Betracht, daß Diarrhöen bzw. die mit einer stärkeren Reizung der Darmschleimhaut verbundene Vermehrung der Sekretion von Succus entericus die Gallenproduktion hemmt. Ich habe bei meinen Tieren niemals Diarrhöen beobachtet, kann aber eine vermehrte Produktion von Succus entericus nicht ausschließen.

Mit Rücksicht auf den Ausgangspunkt der Versuche habe ich in erster Linie die Wirkung des Karlsbader Mineralwassers studiert, zum Vergleiche mit ihr die Wirksamkeit von Sulfatlösungen verschiedener Konzentration und die Wirksamkeit von Salzen, insbesondere mit anderen Anionen untersucht.

Nach vielfachen Versuchen erwies sich mir folgende Methodik als zweckmäßig.

Die Tiere im Gewicht von 1300 bis 2200 g waren mit gemischtem Futter ernährt und wurden einige Stunden vor Beginn des Versuches nüchtern gehalten. Ich narkotisierte mit einer 10proz. wässerigen Urethanlösung, von der das Tier 12 ccm, das ist 1,2 g pro Kilogramm, subkutan injiziert erhielt. Die Narkose trat zumeist nach einer halben Stunde ein und hielt viele Stunden (bis 8) in genügender Tiefe an. Die Tiere wurden auf einem heizbaren Operationstische gehalten. Ein Querschnitt längs des rechten Rippenbogens nach Art des *Kehr*schen Wellenschnittes erwies sich praktischer als der übliche Medianschnitt. Der Ductus cysticus wurde unmittelbar nach seinem Abgange von der Gallenblase mit Nadel umstochen und abgebunden. Dies ist notwendig, um ein reines Bild der tatsächlichen

Gallen*sekretion* zu erhalten. Vom Ductus choledochus wurde fast unmittelbar vor seinem Übertritt auf die Duodenalwand ein kleines Stück frei präpariert, dieses umschlungen, angeschnitten und eine kurze dünne Glaskanüle eingebunden, an welche mittels eines Schlauchstückes ein kurzes, gebogenes Auslaufröhrchen angesetzt war[1]). Von besonderer Wichtigkeit, ja für die Durchführung des Versuches ausschlaggebend, ist eine sichere Fixierung der Kanüle, welche mittels einer an einem Bleistabe angelöteten Klemme, die jede ihr gegebene Lage behält, ausgeführt wurde. Sodann wurde im Duodenum oberhalb der Papilla Vateri eine kleine Fistel angelegt, in diese eine Glashahnkanüle mit kurzem Schlauchansatz eingebunden und ebenfalls sicher fixiert. Sodann nähte ich die Bauchhöhle wieder vollkommen zu und bedeckte das Tier mit Tüchern.

In einigen Versuchen benutzte ich auch die von *Pohl* angegebene Methodik der Gallen*blasen*fistel bei abgebundenem Choledochus, welche den Vorzug der einfacheren Technik hat.

Die austropfende Galle wurde in kleinen Wägegläschen aufgefangen und in regelmäßigen Zeitabständen von 20 Minuten, seltener 15 Minuten, gesammelt und auf Zentigramme genau gewogen. Die Erfahrung lehrte, daß normale Schwankungen bis zu 3 dg pro 20 Minuten vorkommen, die Messung ist demnach von ausreichender Genauigkeit; für die Darstellung der Resultate konnten aber die Zentigramme entfallen und es wurde von ihnen nur Korrektur genommen.

Mit Ausnahme eines Tropfens für die Bestimmung der Refraktion und weniger Tropfen für die Bestimmung des Trockengehaltes wurde die gesamte Gallenportion in kleinen Partien und in regelmäßigen Abständen in der nächstfolgenden Versuchsperiode durch die Duodenalkanüle langsam reinjiziert. Die gleiche Kanüle diente zum Einbringen der Lösungen der Versuchsubstanzen, welche stets auf etwa 40° C erwärmt worden waren.

An den einzelnen Gallenportionen wurde bestimmt: Gewicht und Refraktion, bei einem Teile der Versuche auch die Viskosität und in zahlreichen Versuchen die Menge der Trockensubstanz.

Die Viskosität wurde mit einem dem *Traube*schen Apparate nachgebildeten Apparate im Wassermantel bei 20° C bestimmt, die gefundenen Werte in der üblichen Weise so berechnet, daß der Wert für destilliertes Wasser gleich 100 gesetzt wurde. In späteren Versuchen habe ich auf diese Bestimmung verzichtet, da ich, ähnlich wie *Neubauer*, ganz unregelmäßige Schwankungen beobachtete, so daß aus diesen Werten kaum Schlüsse gezogen werden können.

Die Refraktion wurde mit einem *Pulfrich*schen Eintauchrefraktometer von *Zeiss* im Wasserbade von 17,5° C gemessen, zur Trockenbestimmung wurden gewogene Mengen bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Körpertemperatur wurde von Zeit zu Zeit im After gemessen, sie hielt sich stets konstant. Mit Rücksicht darauf, daß nach *Bürker* grobe Änderungen der Respiration auf den Gallenfluß einen Einfluß haben können, wurde stets die Atemfrequenz durch einfaches Auszählen der Atemzüge während einer Minute in jeder Periode mehrmals bestimmt. Ich habe jedoch

---

[1]) Die bei Kaninchen häufig vorkommenden Coccidien im Omentum minus stören den Versuchsverlauf nicht und erfordern nur manchmal ein Lösen der mehr oder weniger reichlichen Verwachsungen bei der Operation.

einen wesentlichen Einfluß der Atemfrequenz oder von Änderungen dieser auf die Gallensekretion nicht beobachten können[1]).

Es wäre wünschenswert gewesen und lag nahe, den Farbstoffgehalt der einzelnen Gallenportionen kolorimetrisch zu ermitteln. Es gelang mir jedoch nicht, eine haltbare Vergleichslösung von der gleichen Farbe wie die Kaninchengalle zu finden. Die Kaninchengalle ist laubgrün, mit einem individuell wechselnden, mehr oder weniger deutlichen Stich ins Gelbliche, die Meerschweinchengalle, Hunde- und Katzengalle sind dagegen rein gelb. Zur Bestimmung kam nur eine Methode in Betracht, welche entweder die Reinjektion der verwendeten Galle gestattet oder nur minimale Mengen verbraucht. Die Diazoreaktion ist hierzu ungeeignet, weil die Kaninchengalle sie nicht gibt, wohl deshalb, weil hier hauptsächlich Biliverdin vorliegt, welches nach den Angaben von *Pröscher* nicht gekuppelt wird, was ich bestätigen kann. — Auf eine Bestimmung der Oberflächenspannung habe ich verzichtet, da *Neubauer* die prinzipielle Feststellung gemacht hat, daß man aus den Werten für die Oberflächenspannung mittels Stalagmometrie keinen bindenden Schluß auf die Menge der Gallensäuren ziehen kann.

Die von meinen Versuchstieren normal entleerten Gallenmengen pro Stunde schwanken von 5,4 bis 13,4 ccm, was einer Tagesmenge von 130 bis 322 ccm entspricht. Vergleicht man mit diesen Zahlen die von derartig ernährten Tieren gelieferten Harnmengen pro Tag (30 bis 100 ccm), so ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß bis dreimal mehr Galle als Harn produziert wird. Die Lebhaftigkeit der Gallensekretion geht nicht etwa mit dem Körpergewicht parallel. Dagegen schwanken die normalen Konzentrationswerte für die Trockensubstanz der Kaninchengalle weniger, es kommen zumeist Werte um 1,8 Proz. herum vor, nur ausnahmsweise Werte über 2 Proz. oder Werte unter 1,6 Proz. Die normalen Refraktionswerte weisen große individuelle Schwankungen auf: Die höchsten Werte finden sich in der Regel bei kleinen Sekretionsmengen, doch gibt es auch Ausnahmen.

In den meisten der im folgenden mitgeteilten Versuche verlaufen die Kurven für Menge, Trockensubstanz und Refraktionswert mehr minder gleichsinnig. Wir haben es also bei einer *Steigerung* der Gallensekretion mit einer gleichzeitigen Zunahme der Menge ($V$) und Konzentration ($C$) der Galle zu tun, wie sich das auch unmittelbar aus den in der Tabelle aufgezeichneten Werten ablesen läßt[2]). In einem Teile der Versuche erfolgte als Reaktion auf einen Eingriff eine Zunahme von $C$ ohne gleichzeitige Zunahme von $V$. In einer weiteren Gruppe war dagegen als Wirkung nur eine Zunahme von $V$ festzustellen, während $C$ unverändert blieb. Die Refraktionswerte folgen nicht, wie man glauben sollte, streng den Werten für $C$, wenn auch beide Kurven annähernd parallel gehen. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß kleine Schleimbeimengungen die Refraktion unverhältnismäßig stark steigern. Tabelle I gibt diese Beobachtungen wieder.

---

[1]) Nicht uninteressant ist die wiederholt gemachte Beobachtung, daß nach Tötung der Tiere durch intravenöse Einspritzung von Chloroform nach Systieren der Herztätigkeit und Atmung ein Abtropfen von Galle noch durch mehrere Minuten in abnehmender Frequenz beobachtet werden konnte.

[2]) Bei verschiedenen Tieren gehen jedoch, wie Tabelle I zeigt, Tagesmenge und Konzentration nicht parallel.

*Tabelle I.*

| Gewicht g | Normale Gallensekretion in ccm in 1 Std. | in 24 Std. | Trockengehalt Proz. | Refraktionswert |
|---|---|---|---|---|
| | | Kaninchen. | | |
| 1290 | 6,6 | 158 | — | 24,7 |
| 1320 | 8,2 | 197 | — | 24,3 |
| 1360 | 8,6 | 206 | 1,8 | 23,7 |
| 1380 | 7,6 | 182 | 1,7 | 23,7 |
| 1390 | 12,1 | 290 | 1,2 | 23,3 |
| 1400 | 6,8 | 163 | 1,8 | 24,0 |
| 1400 | 8,2 | 197 | — | 23,7 |
| 1450 | 9,4 | 226 | 1,7 | 23,8 |
| 1460 | 6,5 | 156 | 1,94 | 23,8 |
| 1480 | 5,7 | 137 | — | 25,6 |
| 1500 | 9,1 | 218 | — | 24,6 |
| 1500 | 9,4 | 226 | — | 24,7 |
| 1510 | 9,3 | 223 | — | 23,8 |
| 1510 | 9,7 | 233 | 1,7 | 23,5 |
| 1520 | 7,5 | 180 | — | 24,1 |
| 1565 | 13,4 | 322 | 1,6 | 22,6 |
| 1580 | 9,1 | 218 | — | 24,0 |
| 1600 | 7,8 | 185 | 1,5 | 23,5 |
| 1600 | 12,8 | 307 | — | 23,5 |
| 1650 | 10,4 | 250 | — | 23,1 |
| 1650 | 13,3 | 319 | — | 23,8 |
| 1700 | 8,9 | 214 | 1,2 | 25,7 |
| 1700 | 9,6 | 230 | — | 23,1 |
| 1730 | 12,9 | 286 | — | 23,0 |
| 1770 | 7,5 | 170 | 1,7 | 26,0 |
| 1770 | 7,5 | 180 | 2,5 | 27,1 |
| 1800 | 7,3 | 175 | — | 25,0 |
| 1850 | 7,5 | 180 | 1,9 | 23,7 |
| 1850 | 6,4 | 154 | 1,85 | 24,6 |
| 1870 | 9,5 | 228 | 1,6 | 24,3 |
| 1880 | 8,8 | 211 | — | 23,6 |
| 1880 | 10,1 | 242 | — | 23,7 |
| 1950 | 7,3 | 175 | — | 25,0 |
| 1970 | 12,4 | 298 | — | 23,4 |
| 1980 | 5,4 | 130 | — | 23,5 |
| 2000 | 7,2 | 173 | — | 23,8 |
| 2020 | 8,6 | 206 | — | 24,9 |
| 2025 | 9,4 | 226 | 1,9 | 24,6 |
| 2030 | 9,4 | 226 | 1,43 | 23,8 |
| 2120 | 10,7 | 257 | — | 23,0 |
| 2160 | 8,2 | 197 | — | 24,5 |
| 2180 | 9,3 | 223 | — | 24,4 |
| 2300 | 9,5 | 228 | — | 23,6 |
| 2370 | 10,5 | 252 | — | 23,5 |
| 2450 | 5,9 | 142 | — | 25,3 |
| 2500 | 6,9 | 166 | — | 24,0 |
| | | Meerschweinchen. | | |
| 540 | 3,5 | 84 | — | 22,2 |
| 600 | 4,4 | 106 | — | 22,2 |
| 780 | 4,1 | 98 | 1,80 | 22,8 |
| 800 | 2,7 | 65 | — | 22,3 |
| 850 | 4,8 | 115 | 1,30 | 22,1 |
| | | Hund, nüchtern. | | |
| 7200 | 2,2 | — | 10,31 | — |

Es muß weiteren Erfahrungen vorbehalten bleiben, zu entscheiden, ob in der Tat, wie dies aus der Zusammenstellung der Versuche hervorzugehen scheint, dreierlei Arten der Steigerung der Gallensekretion möglich sind, nämlich:

1. Zunahme von *Menge und Konzentration* als Ausdruck des höchsten Grades von Steigerung der Sekretionstätigkeit.

2. Zunahme von *Menge ohne Konzentrationsänderung* als geringerer Grad einer Wirkung.

3. Zunahme der *Konzentration ohne Mengenzunahme.*

In der Mehrzahl der beobachteten Wirkungen handelt es sich in der vorliegenden Mitteilung um eine Konzentrationszunahme der Galle, in einer geringeren Zahl von Versuchen ist die Konzentration unverändert. *Eine Abnahme der Konzentration hingegen wurde als Wirkung nicht beobachtet.*

Auf diese interessanten Beziehungen sind die bisherigen Untersucher der Gallensekretion zumindest nicht näher eingegangen. Gleichwohl ergibt sich aus dem Studium des von *Neubauer*, *Pohl* und *Rutherford* veröffentlichten Zahlenmaterials, daß auch in den meisten ihrer Versuche bei Steigerung der Gallenmenge gleichzeitig eine Zunahme der Konzentration der Galle eingetreten ist.

*Neubauer* sah bei einer Vermehrung des Gallenvolumens durch verschiedene gallensaure Salze und deren Derivate in der Mehrzahl seiner mitgeteilten Versuche gleichfalls eine gleichzeitige Vermehrung von $C$, seltener eine Volumzunahme ohne Änderung von $C$, niemals eine Abnahme von $C$. Pilocarpin und Atropin ließen in seinen Versuchen $V$ und $C$ im großen und ganzen unverändert, bei Adrenalin fand er in der Regel bei Abnahme oder unverändertem $V$ eine Zunahme von $C$, Eigengalle intravenös machte in seinen Versuchen lediglich eine Vergrößerung von $V$ bei unveränderter $C$.

*Pohl* gibt an, daß bei seinen Versuchen mit Salzen verschiedener Gallensäuren das spezifische Gewicht der einzelnen Portionen nur geringe Unterschiede aufwies, und sieht „somit die Versuchsgallen in ihren wesentlichen Bestandteilen als gleichmäßig vermehrt“ an. In dem ausführlicher mitgeteilten Protokoll eines Versuches ist eine deutliche Erhöhung des spezifischen Gewichtes bei gleichzeitiger starker Volumzunahme nach intravenöser Zufuhr von cholsaurem Natrium zu ersehen. *Rutherford* dagegen fand in einigen seiner Versuche eine Abnahme von $C$ bei gleichzeitiger Steigerung von $V$, allerdings nur ausnahmsweise, in der Regel ist auch bei seinen Hunden $V$ und $C$ gleichzeitig gesteigert oder $V$ bei unveränderter $C$ vermehrt.

Es scheint bei den Verdauungsdrüsen überhaupt die Regel zu sein, daß bei Sekretionssteigerung $V$ *und* $C$ zunehmen. So ergibt sich dies für *Babkin* aus den zahlreichen experimentellen Daten für Mensch und Hund bei Sekretionssteigerung der Speicheldrüsen. Für das Pankreas gilt nach *Babkin* dasselbe, wobei noch wiederholt festgestellt wurde, daß der Fermentgehalt des Pankreassaftes um so größer ist, je reichlicher feste Substanz zugegen ist. Für die Magensekretion gilt ebenfalls die Regel, daß mit Zunahme des festen Rückstandes die Verdauungskraft steigt. Für den Succus entericus liegen jedoch nur sehr widerspruchsvolle Angaben vor.

In diesem Verhalten der Verdauungsdrüsen liegt ein bemerkenswerter Unterschied gegenüber den Verhältnissen bei der Harnsekretion vor, bei der $V$ und $C$ in der Regel in entgegengesetzter Richtung verlaufen. Doch sei hier darauf hingewiesen, daß für einzelne Harnbestandteile ein ähnliches

Verhalten möglich ist, wie es die Gallensekretion zeigt. So fand ich, daß eine Steigerung der Harnsäurekonzentration im Harn auch bei mäßig gesteigerter Diurese stattfinden kann. Möglicherweise gilt ähnliches auch für jene anderen Harnbestandteile, welche nicht wie der Gesamtstickstoff und das Chloridion mit dem ausgeschiedenen Wasser steigen und fallen.

Es sei hier darauf hingewiesen, daß es bisher völlig unbekannt ist, ob der Farbstoffgehalt der Galle an den Schwankungen der Konzentration mitbeteiligt ist. Und deshalb erscheint es vorläufig nicht berechtigt, wie dies von klinischer Seite geschieht, aus dem Farbstoffgehalt der Galle bzw. des Produktes der Duodenalsondierung Schlüsse auf die Konzentration der Galle zu ziehen.

Es handelt sich also bei einer Steigerung der Gallensekretion nicht um einen analogen Vorgang wie bei der Beeinflussung der Nierensekretion, ja es erscheint sogar fraglich, ob eine Verdünnung der Galle durch Pharmaka überhaupt möglich ist, eine Frage, die vom therapeutischen Gesichtspunkte aus nicht unwichtig wäre. Für die Möglichkeit einer von klinischer Seite vielfach erwünschten oder supponierten Verflüssigung der Galle, gleichsam einer „Gallendiurese", findet sich im Tierexperiment bisher keine Grundlage.

## II.

Als Beispiel für den unbeeinflußten Verlauf der Gallensekretion mit Reinjektion der sezernierten Galle ins Duodenum führe ich folgenden Versuch an.

*Protokoll Nr. 4.*

Kaninchen, 1470 g, 1,7 g Urethan. Reinjektion der Galle ins Duodenum. Choledochusfistel bei abgebundenem Cysticus. Periodendauer: 20 Minuten.

| Perioden | g | R [1]) | V |
|---|---|---|---|
| 1 | 2,8 | 23,7 | 101,9 |
| 2 | 2,7 | 23,2 | 101,9 |
| 3 | 2,7 | 23,4 | 101,9 |
| 4 | 2,7 | 22,9 | 101,9 |
| 5 | 2,5 | 22,9 | 101,9 |
| 6 | 2,7 | 22,7 | 102,3 |
| 7 | 2,4 | 23,0 | 103,9 |
| 8 | 2,5 | 22,6 | 103,9 |
| 9 | 2,4 | 22,7 | 103,9 |

Abb. 1 [2]).

Daß ohne Reinjektion der Galle die in der Zeiteinheit sezernierte Menge dauernd absinkt, geht aus den Versuchen von *Bürker* sowie *Neubauer* bei Kaninchen, von *Schiff* sowie *Rutherford* beim Hunde hervor. Auch

[1]) In dieser und den folgenden Tabellen bedeutet *R* die Refraktionswerte, *V* die Viskositätswerte, *A* die Zahl der Atemzüge pro Minute.

[2]) In dieser und allen folgenden Abbildungen wurden die Versuchsergebnisse graphisch dargestellt, und zwar die sezernierten Gallenmengen als Dezigramme: ——, die sezernierten Mengen Trockensubstanz als Milligramme: ------, und die zugehörigen Refraktometerwerte als Zehntel, wobei zur Verkürzung die Zehner weggelassen wurden, es bedeutet demnach in den Abbildungen z. B. 36 einen Refraktometerwert 23,6: — — .

der folgende Versuch soll zeigen, daß mit dem Systieren der Reinjektion ehestens ein kontinuierliches Absinken der sezernierten Mengen eintritt.

*Protokoll Nr. 3.* (Abb. 2.)

Kaninchen, 1650 g, 2,0 g Urethan. Choledochusfistel bei abgebundenem Cysticus. Duodenalfistel. Periodendauer: 20 Minuten.

| Perioden | g | R | |
|---|---|---|---|
| 1 | 3,4 | 23,1 | Galle reinjiziert |
| 2 | 3,5 | 23,1 | „ „ |
| 3 | 3,5 | 22,8 | „ „ |
| 4 | 3,3 | 22,6 | „ „ |
| 5 | 3,3 | 22,3 | „ „ |
| 6 | 3,2 | 22,3 | „ „ |
| 7 | 3,3 | 22,1 | Galle *nicht* reinjiziert |
| 8 | 2,9 | 22,1 | „ „ „ |
| 9 | 2,8 | 22,0 | „ „ „ |
| 10 | 2,7 | 22,0 | „ „ „ |

Auch beim Hunde im Nüchternzustande scheint die wesentlich geringere Gallensekretion mit gleichbleibender Geschwindigkeit zu erfolgen, wenn die Galle regelmäßig ins Duodenum wieder eingebracht wird.

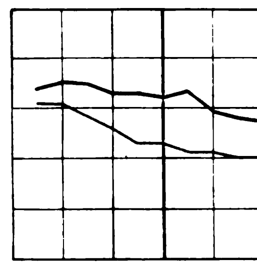


Abb. 2.



Abb. 3.

Die intravenöse und intraduodenale Zufuhr eines physiologischen Salzgemisches (*Tyrode*sche Nährlösung) läßt die Gallensekretion unbeeinflußt. Es wurden je zwei Versuche ausgeführt, als Beispiel diene der folgende:

*Protokoll Nr. 7.* (Abb. 3.)

Kaninchen, 1700 g, 2,05 g Urethan. Reinjektion der Galle ins Duodenum. Übliche Versuchsanordnung. Periodendauer: 20 Minuten. Jugulariskanüle.

| Perioden | g | R | V | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3,6 | 23,6 | 101,9 | |
| 2 | 3,0 | 23,2 | 101,9 | |
| 3 | 3,0 | 23,1 | 101,9 | |
| 4 | 3,0 | 22,9 | 101,9 | |
| 5 | 3,1 | 23,0 | 102,7 | 20 ccm Tyrodelösung intravenös |
| 6 | 3,1 | 23,3 | 103,5 | |
| 7 | 3,2 | 23,0 | 105,9 | |
| 8 | 3,1 | 22,4 | 105,9 | |
| 9 | 3,2 | 22,4 | 105,9 | |
| 10 | 3,9 | 23,0 | 105,9 | 2 ccm Eigengalle intravenös |

### III. Wirkung des Karlsbader Mineralwassers.

Es wurden im ganzen 12 Versuche an Kaninchen ausgeführt. In vier von ihnen wurde das Mineralwasser in einer Menge von 20 bis 30 ccm langsam körperwarm intravenös injiziert. In den restlichen acht Versuchen wurde das Wasser in Portionen von 10 ccm in der Gesamtmenge von 40 bis 60 ccm sehr langsam, zumeist innerhalb einer halben Stunde, ins Duodenum injiziert. Die intravenöse Applikation hatte in allen Fällen eine Steigerung der Gallensekretion zur Folge, wofür nachstehendes Protokoll als Beleg diene:

*Protokoll Nr. 8.*

Kaninchen, 2300 g, 2,7 g Urethan. Übliche Versuchsanordnung. Periodendauer: 20 Minuten.

| Perioden | g | B | V | |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3,3 | 23,6 | 103,9 | |
| 2 | 3,1 | 23,6 | 103,9 | |
| 3 | 3,1 | 23,6 | 103,9 | |
| 4 | 3,1 | 23,4 | 103,9 | 20 ccm Karlsbader Mühlbrunn intravenös |
| 5 | 3,1 | 23,0 | 103,9 | |
| 6 | 3,4 | 23,0 | 105,9 | |
| 7 | 3,5 | 23,6 | 105,2 | |
| 8 | 3,9 | 23,2 | 102,7 | |
| 9 | 3,8 | 23,0 | 101,9 | |
| 10 | 4,1 | 23,0 | 101,9 | |
| 11 | 3,9 | 23,3 | 101,1 | |
| 12 | 4,4 | 23,3 | 101,2 | |
| 13 | 4,9 | 23,4 | 101,9 | |
| 14 | 5,7 | 23,4 | 101,9 | |
| 15 | 5,8 | 23,8 | 101,9 | |
| 16 | 6,4 | 24,1 | 102,7 | |
| 17 | 5,5 | 23,6 | 101,9 | |
| 18 | 5,2 | 23,0 | 101,9 | |
| 19 | 4,8 | 23,0 | 101,9 | |
| 20 | 4,5 | 23,0 | 101,9 | |



Abb. 4.

Die duodenale Darreichung zeigte nicht diese regelmäßige Wirksamkeit. Von acht Versuchen war nur in vier eine deutliche Steigerung der Gallen-

sekretion zu beobachten. Von den negativ verlaufenen scheidet aber einer aus der Statistik deshalb aus, weil die nachfolgende intravenöse Injektion von Eigengalle bzw. eines sonst prompt wirkenden Sekretinpräparates gleichfalls unwirksam war. Ein zweiter negativer Versuch wurde an einem Tiere ausgeführt, welches durch längere Zeit vor dem Versuche einseitig nur mit Hafer ernährt worden war und möglicherweise dadurch eine veränderte Reaktionsweise erlangt hatte. Ein dritter negativer Versuch war hinsichtlich der Mineralwasserwirkung im allgemeinen nicht negativ, da die folgende intravenöse Infusion wirksam war. Es bleibt somit nur ein einziger, tatsächlich negativ verlaufener Versuch an einem Tiere, welches nachher auf Sekretininjektion prompt reagiert hatte. Von den für die

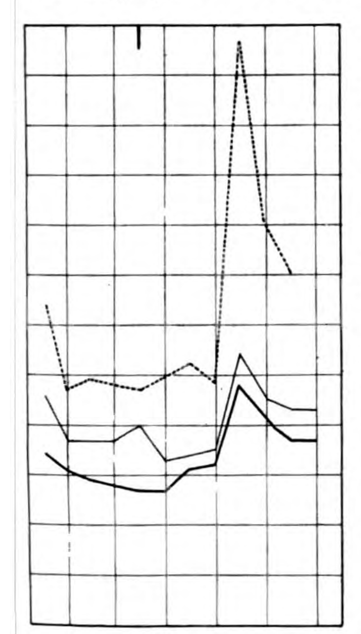


Abb. 5.

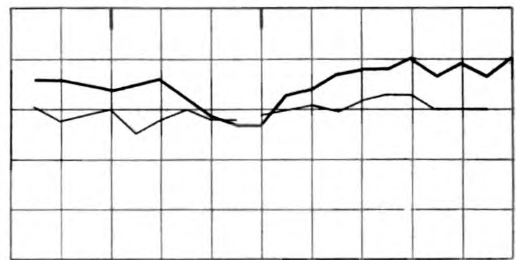


Abb. 6.

Statistik verwertbaren fünf Duodenalversuchen verliefen demnach vier, das sind 80 Proz., positiv.

Als Beispiel der Wirkung bei intraduodenaler Zufuhr diene nachstehender Versuch:

*Protokoll Nr. 39.* (Abb. 5.) Kaninchen, 2025 g, 2,5 g Urethan. Gallenblasenfistel bei abgebundenem Choledochus. Reinjektion der Galle ins Duodenum. Periodendauer: 20 Minuten.

| Perioden | g | Trockengehalt | | R | A | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Proz. | mg | | | |
| 1 | 3,4 | 1,9 | 64 | 24,6 | 70 | |
| 2 | 3,1 | 1,5 | 47 | 23,7 | 70 | |
| 3 | 2,9 | 1,7 | 49 | 23,7 | 75 | |
| 4 | 2,8 | 1,7 | 48 | 23,7 | 80 | |
| 5 | 2,7 | 1,7 | 47 | 24,0 | 100 | 50 ccm Mühlbrunn ins Duodenum |
| 6 | 2,7 | ? | ? | 23,3 | 102 | |
| 7 | 3,1 | 1,7 | 52 | 23,4 | 110 | |
| 8 | 3,2 | 1,5 | 48 | 23,5 | 115 | |
| 9 | 4,8 | 2,4 | 117 | 25,4 | 102 | |
| 10 | 4,2 | 1,9 | 80 | 24,5 | 88 | |
| 11 | 3,7 | 1,9 | 70 | 24,3 | 84 | |
| 12 | 3,7 | 1,9 | 70 | 24,3 | 84 | |

Der vorhin erwähnte Versuch einer negativen Wirkung vom Duodenum aus und positiver Wirkung bei nachfolgender intravenöser Infusion ist folgender:

*Protokoll Nr. 15.* (Abb. 6.) Kaninchen, 2120 g, 2,55 g Urethan, Choledochusfistel bei abgebundenem Cysticus. Reinjektion der Galle ins Duodenum. Jugulariskanüle. Periodendauer: 20 Minuten.

| Perioden | g | R | V | A | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3,6 | 23,0 | 107,8 | 40 | |
| 2 | 3,6 | 22,8 | 107,8 | 40 | |
| 3 | 3,5 | 22,9 | 109,4 | 37 | |
| 4 | 3,4 | 23,0 | 109,4 | 37 | 40 ccm Karlsbader Mühlbrunn ins Duodenum |
| 5 | 3,5 | 22,5 | 109,0 | 36 | |
| 6 | 3,6 | 22,8 | 109,4 | 35 | |
| 7 | 3,3 | 23,0 | 109,0 | 35 | |
| 8 | 3,2 | 22,8 | 108,0 | 33 | |
| 9 | 2,9 | 22,8 | 106,6 | 33 | |
| 10 | 2,7 | — | 105,8 | 35 | 20 ccm Karlsbader Mühlbrunn intravenös |
| 11 | 2,7 | 22,9 | 105,1 | 35 | |
| 12 | 3,3 | 23,0 | 105,1 | 35 | |
| 13 | 3,4 | 23,1 | 105,8 | 32 | |
| 14 | 3,7 | 23,0 | 105,1 | 31 | |
| 15 | 3,8 | 23,2 | 105,5 | 33 | |
| 16 | 3,8 | 23,3 | 104,7 | 29 | |
| 17 | 4,0 | 23,3 | 104,7 | 32 | |
| 18 | 3,7 | 23,0 | 105,1 | 29 | |
| 19 | 3,9 | 23,0 | 105,5 | 29 | |
| 20 | 3,7 | 23,0 | 105,5 | 32 | |
| 21 | 4,0 | — | — | 32 | |

Beim Vergleich der beiden Versuchsreihen, namentlich unter Berücksichtigung des letzten Versuches, Protokoll Nr. 15, ergibt sich ungezwungen der Schluß, daß die gallentreibende Wirkung des Karlsbader Mineralwassers auf intravenösem Wege sicherer zu erzielen ist als durch Einführung in den Darm, wiewohl auch in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche bei dieser Art der Zufuhr eine Steigerung der Gallensekretion ausgelöst wird.

Ebenso hatte an einem Meerschweinchen die intraduodenale Infusion von Karlsbader Mineralwasser eine deutliche Steigerung der Gallensekretion zur Folge:

*Protokoll Nr. 33.* (Abb. 7.) Meerschweinchen, 780 g, 1,56 g Urethan. Choledochusfistel bei abgebundenem Cysticus. Reinjektion der Galle ins Duodenum. Periodendauer: 15 Minuten.

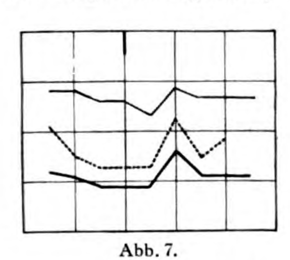
| Perioden | g | Trockengehalt | | R | A | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Proz. | mg | | | |
| 1 | 1,2 | 1,8 | 21 | 22,8 | 28 | |
| 2 | 1,1 | 1,4 | 15 | 22,8 | 28 | |
| 3 | 0,9 | 1,3 | 13 | 22,6 | 28 | |
| 4 | 0,9 | 1,4 | 13 | 22,6 | 30 | 20 ccm Karlsbader Mühlbrunn ins Duodenum |
| 5 | 0,9 | 1,4 | 13 | 22,3 | 28 | |
| 6 | 1,4 | 1,6 | 22 | 22,8 | 26 | |
| 7 | 1,1 | 1,2 | 14 | 22,7 | 28 | |
| 8 | 1,1 | 1,6 | 18 | 22,7 | 28 | |
| 9 | 1,1 | — | — | 22,7 | 28 | |

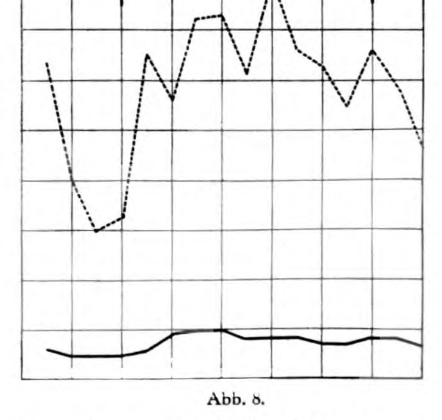
Bei einem Hunde konnte ich ebenfalls eine Steigerung der Gallensekretion sowohl vom Duodenum aus als auch bei nachfolgender intravenöser Zufuhr durch das Mineralwasser beobachten.

*Protokoll Nr. 59.* (Abb. 8.) Hündin, 7200 g, 4 g Chloreton per os, nach ½ Stunde Narkose. Choledochusfistel bei abgebundenem Cysticus. Reinjektion der Galle ins Duodenum. Periodendauer: 15 Minuten.

| Perioden | g | Trockengehalt | | A | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Proz. | mg | | |
| 1 | 0,61 | 10,3 | 63 | 9 | |
| 2 | 0,55 | 7,3 | 40 | 9 | |
| 3 | 0,50 | 6,1 | 30 | 8 | |
| 4 | 0,46 | 7,1 | 33 | 8 | 100 ccm Karlsbader Mühlbrunn ins Duodenum |
| 5 | 0,57 | 11,3 | 65 | 9 | |
| 6 | 0,87 | 6,4 | 56 | 9 | |
| 7 | 0,96 | 7,5 | 72 | 9 | |
| 8 | 0,97 | 7,5 | 73 | 9 | |
| 9 | 0,83 | 7,3 | 61 | 9—10 | |
| 10 | 0,78 | 10,2 | 79 | 10 | |
| 11 | 0,78 | 8,5 | 66 | 10 | |
| 12 | 0,71 | 8,9 | 63 | 10 | |
| 13 | 0,70 | 7,9 | 55 | 10 | |
| 14 | 0,83 | 7,9 | 66 | 10 | 30 ccm Karlsbader Mühlbrunn intravenös |
| 15 | 0,76 | 7,7 | 58 | 12 | |
| 16 | 0,67 | 7,9 | 46 | 12 | |

Die Versuche, welche unternommen wurden, um festzustellen, wodurch diese beobachtete gallentreibende Wirkung des Karlsbader Mineralwassers beim Kaninchen bedingt ist, haben folgendes ergeben[1]).


Abb. 7.


Abb. 8.

Da das Karlsbader Mineralwasser mit etwa 88 Millimol im Liter gegenüber den physiologischen Verhältnissen mit 170 Millimol im Liter stark *hypotonisch* ist, wurde zunächst eine auf den osmotischen Druck des Karlsbader Mineralwassers verdünnte *Tyrodelösung* (484 ccm ad 1000) injiziert. Nachstehender Versuch zeigt die Wirkungslosigkeit dieser Lösung auf die Gallensekretion:

[1]) Da die meisten dieser Versuche negativ ausgefallen sind, verzichte ich auf eine detaillierte Wiedergabe der Protokolle und der kurvenmäßigen Darstellung der Ergebnisse.

*Protokoll Nr. 41.* (Abb. 9.) Kaninchen, 1760 g, 2,1 g Urethan. Übliche Versuchsanordnung. Periodendauer: 20 Minuten.

| Perioden | g | Trockengehalt Proz. | Trockengehalt mg | R | A | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2,6 | 1,7 | 43 | 26,8 | 95 | |
| 2 | 2,3 | 1,6 | 38 | 26,0 | 100 | |
| 3 | 2,2 | 1,7 | 32 | 26,0 | 120 | |
| 4 | 2,1 | 1,5 | 33 | 26,5 | 130 | 50 ccm verdünnte Tyrodelösung ins Duodenum |
| 5 | 2,1 | 1,5 | 31 | 26,0 | 124 | |
| 6 | 2,1 | 1,5 | 31 | 25,4 | 124 | |
| 7 | 2,3 | 1,4 | 33 | 25,0 | 112 | |
| 8 | 2,5 | 1,4 | 35 | 25,1 | 120 | |
| 9 | 2,5 | 1,4 | 35 | 25,0 | 130 | |
| 10 | 2,5 | 1,4 | 35 | 25,0 | 120 | |
| 11 | 2,4 | 1,3 | 31 | 25,0 | 120 | |

Die *Hypotonie* kann also als Ursache für die Mineralwasserwirkung auf die Gallensekretion ausgeschlossen werden.

In zweiter Linie wurde die Wirkung des *Sulfations* geprüft, welches ja dem Karlsbader Mineralwasser sein charakteristisches Gepräge verleiht. Es erwies sich in der Tat als wirksam, allerdings erst in erheblich höheren Konzentrationen als es im Karlsbader Mineralwasser vorhanden ist. Die nachstehende Tabelle zeigt, daß die Wirkung reiner Glaubersalzlösungen in erster Linie von der Konzentration abhängig ist: Nur stärker konzentrierte Lösungen waren wirksam, nämlich die, bei welchen 312 und 156 Millimol im Liter enthalten sind. Lösungen mit 81 Millimol erwiesen sich als wirkungslos, trotzdem sie immerhin 4,5mal mehr Sulfat enthalten als das Karlsbader Mineralwasser mit nur 18 Millimol $SO_4$ im Liter. Allerdings fällt der Versuch Nr. 20 aus der Reihe, welcher eine physiologisch isotonische Sulfatlösung betrifft, da keine Wirkung beobachtet werden konnte; die Tabelle zeigt ferner, daß die *absoluten* Mengen des verabreichten Sulfats für die Wirkung nicht maßgebend sind.


Abb. 9.

*Tabelle II.*

| Versuchs-Nr. | Injizierte Lösung | $SO_4$ Millimol im Liter | $SO_4$ absol. Menge injiziert g | Injizierte Menge ccm | Wirkung |
|---|---|---|---|---|---|
| 46, 47 | Natr. sulf. sicc. 5 Proz. . | 312 | 0,30 | 10 | positiv |
| 20 | ,, ,, ,, 3 ,, . | 180,7 | 0,722 | 40 | negativ |
| 58 | ,, ,, ,, 2,5 ,, . | 156,2 | 0,45 | 30 | positiv |
| 55 | ,, ,, ,, 1,3 ,, . | 81,2 | 0,39 | 40 | negativ |
| 43 | Sulfat-Tyrode . . . . . . | 68,7 | 0,33 | 50 | negativ |
| 12 | Sulfat-Hydrocarbonat . . | 25 | 0,096 | 40 | negativ |
| | Karlsbader Mineralwasser | 17,6 | 0,07 | 40 | positiv |

Dieses Ergebnis könnte dahin gedeutet werden, daß es sich um eine reflektorische Wirkung der stärker konzentrierten Salzlösungen überhaupt infolge osmotischer Reizung der Dünndarmschleimhaut handle. Doch erwiesen Versuche mit anderen Salzen (s. weiter unten) diese Vermutung als unzutreffend.

*Hypertonie* für sich allein bedingt keine Vermehrung der Gallenabsonderung.

Von den zahlreichen in der Literatur mitgeteilten Versuchen über die Wirkung von Sulfaten auf die Gallensekretion sind aus den einleitend angeführten Gründen nur diejenigen von *Rutherford* und ein Versuch von *Pohl* brauchbar. *Rutherford* fand in allen seinen Versuchen an Hunden eine deutliche Steigerung der Gallensekretion als Folge der intraduodenalen Einverleibung von Sulfatlösungen und schließt: „der positive Ausfall dieser Versuche erscheint wichtig, da es bekannt ist, daß das Karlsbader Mineralwasser eine cholagoge Wirkung hat, und daß es ein Gemenge von Natriumsulfat, Natriumcarbonat, Natriumchlorid und Kaliumsulfat ist. Aber Natriumsulfat ist das Hauptsalz, und es ist zweifellos, daß auf dieses die cholagoge Wirkung zu beziehen ist", wiewohl er selbst keine Versuche mit Karlsbader Mineralwasser veröffentlicht hat. *Pohl* hingegen fand in einem Versuche mit Sulfat nach intravenöser Infusion von 0,99 g Natriumsulfat (ohne Angabe der Konzentration) keine Wirkung. Da ich selbst keine Kontrollversuche mit intravenöser Zufuhr von Glaubersalz angestellt habe, bleibt noch speziell die Frage zu entscheiden, ob der negative Befund von *Pohl* das regelmäßige Verhalten darstellt und die intravenöse Sulfatinjektion zum Unterschied von der intraduodenalen und der intravenösen Injektion von Karlsbader Mineralwasser unwirksam ist.

*Die Wirkung des Karlsbader Mineralwassers erscheint daher als eine Sulfatwirkung, welche durch die Anwesenheit anderer Salze erheblich gesteigert ist.*

Um in den hier vorliegenden Mechanismus der Wirkung einen Einblick zu gewinnen, wurde einerseits ein dem Karlsbader Mineralwasser isotonisches Gemenge von Sulfat und Hydrocarbonat gereicht mit dem gleichen Gehalt an Hydrocarbonat, wie er im Mineralwasser vorliegt, also mehr Sulfat als im Karlsbader Mineralwasser, andererseits ein blutisotonisches Sulfatgemenge mit der Kationenzusammensetzung der physiologischen Nährlösung, also auch dieses mit wesentlich mehr Sulfat gereicht: Keins dieser Gemenge erwies sich als wirksam. Die im Tierexperiment gewonnene Anschauung, daß den Sulfaten eine cholagoge Wirkung zukommt, findet eine gewisse Bestätigung in den klinischen Untersuchungen *Einhorns*, der kürzlich mitteilte, daß die mittels Duodenalsondierung beobachtete Vermehrung des Duodenalinhaltes an Galle nach Einspritzung von Magnesiumsulfat ins Duodenum nur durch Sulfate bewirkt wird, nicht aber durch andere Magnesiumsalze, andererseits auch durch Natriumsulfat. Allerdings ist nach der Auffassung des Autors die Entleerung der Gallenblase die Ursache für den beobachteten „Gallenfluß"[1]).

---

[1]) Nach Abschluß dieser Arbeit erschien eine Mitteilung von *Stepp* und *Düttmann*, Klin. Wochenschr. 1923, S. 1587, in welcher über Versuche an Hunden berichtet wird, die ebenfalls eine Erregung der Gallenblasenkontraktion durch Sulfate und natürliche Sulfatwässer ergeben haben, während die Salze anderer Anionen, insbesondere Phosphate, unwirksam befunden wurden. Es sei aber hier besonders betont, daß sich meine Versuche lediglich mit der *Sekretion* der Galle unter *Ausschluß* der *Blasengalle* beschäftigen.

Schließlich kam noch das im Karlsbader Mineralwasser reichlich vorhandene Chloridion (17 Millimol im Liter) als für die Wirkung unterstützend in Frage, doch erwies sich dieses selbst in stark hypertonischen Lösungen für sich allein als unwirksam (s. weiter unten). Auch *Rutherford* fand Kochsalzlösungen beim Hunde als unwirksam.

Das dritte im Karlsbader Mineralwasser vorhandene hauptsächliche Anion, das Hydrocarbonat, habe ich selbst nicht untersucht, da negative Resultate von *Rutherford* vorliegen und *Neubauer* (briefliche Mitteilung) beim Kaninchen bei intravenöser Infusion von 10 g $NaHCO_3$ keinerlei Wirkung fand.

Es bleibt daher die schon früher[1]) ausgesprochene Überzeugung auch hinsichtlich der Beeinflussung der Gallensekretion zu Recht bestehen: *Daß die Wirkung des Karlsbader Mineralwassers eine durch die spezifische Mischung wahrscheinlich der Kationen modifizierte bzw. erheblich gesteigerte Sulfationwirkung darstellt.*

Wie schon oben erwähnt, findet gleichzeitig mit der Volumvermehrung der Galle durch irgendwelche Eingriffe auch eine Zunahme der Konzentration statt, damit also eine erheblich größere Ausscheidung der festen Substanzen. Dies gilt insbesondere auch für die Wirkung des Karlsbader Mineralwassers: In allen Fällen steigt mit der Volumzunahme auch die Konzentration an. Jedenfalls habe ich, dies sei hier nochmals betont, eine Verdünnung der Galle als Wirkung der Zufuhr von Karlsbader Mineralwasser *niemals* beobachten können.

In Anbetracht der Wirkung der Sulfate war es von Interesse, festzustellen, ob das vom Darmkanal aus aufgenommene Sulfat in der Galle zur Ausscheidung gelangt, wie dies ja von vielen Stoffen bekannt ist. Diese Frage konnte nicht entschieden werden. Jedenfalls verläßt die Hauptmenge der zugeführten Sulfate die Zirkulation nicht durch die Galle. Es ist aber bemerkenswert, daß die Galle schon normalerweise nachweisliche Mengen von Sulfat enthält. In einem Versuche habe ich auf die Reinjektion der Galle verzichtet und die halbstündigen Gallenportionen vor und nach intraduodenaler Zufuhr einer 5proz. Lösung von Natrium sulfuricum siccum (10 ccm) auf ihren Gehalt an $SO_4$ untersucht. Die ungefähr fünffach verdünnten Gallen wurden mit kolloidalem Eisen behandelt und im vollkommen klaren, biuretfreien Filtrat die Bestimmung als Bariumsulfat ausgeführt.

Vor der Injektion in einer halben Stunde: 4,1 g Galle mit 0,183 mg $SO_4$ = 4,42 mg-Proz.

Nach der Injektion in einer halben Stunde: 4,4 g Galle mit 0,320 mg $SO_4$ = 7,34 mg-Proz.

In der nächstfolgenden halben Stunde: 4,0 g Galle mit 0,366 mg $SO_4$ = 9,14 mg-Proz.

Vergleicht man damit die von *Wiechowski* gefundenen Werte im Serum von gleichartig genährten Kaninchen, nämlich 40,1 mg-Proz. (s. bei *Stransky*, diese Zeitschr. 122, 4), so ergibt sich, daß die Kaninchengalle normal nur $^1/_{10}$ der Sulfatkonzentration des Serums aufweist, und daß die Zufuhr auch größerer Sulfatmengen in konzentrierter Lösung in den Darmkanal nur einen geringen, ja unbedeutenden Anstieg der Sulfatkonzentration veranlaßt. Da ich auch wiederholt feststellen konnte, daß auch bei reichlicher Aufnahme von Sulfaten per os beim Kaninchen nur ganz unbedeutende

[1]) Diese Zeitschr. 122, 21, 1921.

Sulfatmengen in den Fäzes ausgeschieden werden, unterliegt es keinem Zweifel, daß hauptsächlich die Niere die Ausscheidung der zugeführten Sulfate besorgt, zumal Bilanzversuche ergeben hatten, daß eine Retention von Sulfat im Organismus nicht stattfindet.

## IV.

Die vergleichsweise Prüfung anderer Anionen auf die Gallensekretion und auch einiger Kationen hat folgendes ergeben:

### *A. Anionen.*

Geprüft wurden Chlorid, Chlorat, Phosphat ($HPO_4$) und Tartrat. Da die gegen die physiologische Nährlösung doppelt molar konzentrierte 5proz. Lösung des Salzes $Na_2SO_4 + 1\ H_2O$ (Natrium sulfuricum siccum) wirksam gewesen war, wurden die Natriumsalze der genannten Säuren in der gleichen molaren Konzentration bei intraduodenaler Injektion von je 10 ccm in je einem Versuche auf ihre Wirksamkeit untersucht.

Das Chlorid, das Chlorat und das Phosphat erwiesen sich hinsichtlich der Gallensekretion als unwirksam. Mit Tartrat, und zwar mit Seignettesalz, habe ich zwei Versuche ausgeführt, von denen einer positiv, einer negativ verlief. Bei *Rutherford* hatte das Seignettesalz eine schwach gallentreibende Wirkung. Es ist jedoch auch hier noch, wie oben bei den Sulfatlösungen, zu entscheiden, wie sich die betreffenden Salze bei intravenöser Darreichung verhalten werden, ehe man den aus den bisherigen Versuchen sich ergebenden Schluß als allgemein gültig wird annehmen können, daß *dem Sulfation eine spezifische Wirkung auf die Gallensekretion zukommt.*

### *B. Kationen.*

Geprüft wurden Natrium, Kalium und Calcium, Natrium und Calcium als Chloride, ebenfalls in doppelter Konzentration, als sie der physiologischen Isotonie entspricht, Kalium als Acetat in schwach hypertonischer Lösung. Alle drei Kationen erwiesen sich vom Duodenum aus bei Zufuhr von je 10 ccm als unwirksam. Die Prüfung von Magnesium und Ammonium ist noch ausständig.

Aus Gründen der Raumersparnis verzichte ich auf die ausführliche Wiedergabe dieser Versuche.

## V. Zusammenfassung.

1. Ein den physiologischen Verhältnissen möglichst nahekommendes Bild vom Verlaufe der Gallensekretion erhält man nur, wenn die im akuten Tierversuche bei abgebundenem Cysticus in möglichst kurzen Zeiträumen durch eine Choledochusfistel entleerte Galle regelmäßig durch Injektion ins Duodenum dem Organismus wieder einverleibt wird. Unter diesen Umständen verläuft die Gallensekretion bei Kaninchen und Meerschweinchen, wahrscheinlich auch beim Hunde innerhalb mehrerer Stunden in ausreichender Regelmäßigkeit. Kaninchen, ja auch Meerschweinchen, haben eine lebhaftere Gallensekretion als nüchterne Hunde, noch geringfügiger scheint sie bei nüchternen Katzen zu sein.

2. Wie beim Hunde (*Rutherford*) ist auch beim Kaninchen die cholagoge Wirkung nicht nur durch Zunahme des Volumens, sondern auch des prozentualen Trockengehaltes charakterisiert, so daß die Vermehrung mehr die festen Substanzen als das Wasser betrifft.

3. Das Karlsbader Mineralwasser hat eine zweifellose gallentreibende Wirkung beim Kaninchen, Meerschweinchen und Hunde.

4. Hypotonie und Hypertonie an sich wirken nicht gallentreibend.

5. Von den verschiedenen Anionen und Kationen erwies sich bloß das Sulfation als wirksam.

6. Die cholagoge Wirkung des Sulfations tritt jedoch erst bei einer rund zehnmal größeren Konzentration ein, als sie im Karlsbader Mineralwasser vorliegt. Die cholagoge Wirkung des Karlsbader Mineralwassers ist daher als eine durch das besondere Mischungsverhältnis der in ihm vorhandenen Ionen modifizierte Sulfatwirkung anzusehen.

**Literatur.**

*Babkin*, Äußere Sekretion der Verdauungsdrüsen. Berlin, Springer, 1914. — *Bürker*, Pflügers Arch. f. Physiol. **83**, 241, 1901. — *Einhorn*, New-York. med. Journ. **113**, 325, 1921. — *Neubauer*, diese Zeitschr. **109**, 82, 1920; **130**, 556, 1922. — *Pohl*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **30**, 423, 1922. — *Pröscher*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**, 411, 1900. — *Rutherford* und *Vignal*, Journ. of Anat. and Physiol. (*Humphrey*) **10**, 253, 1876; **11**, 61, 625, 1877. — *Schiff*, Pflügers Arch. f. Physiol. **3**, 598. — *Sgalitzer*, Zeitschr. f. Balneol. **7**, 1, 1914. — *Stransky*, diese Zeitschr. **122**, 1, 1921; **133**, 446, 1922. — *Winogradow*, Engelmanns Arch. f. Physiol. **1908**, S. 313.

# Nachweis und Verbreitung der Phytosterine im Milchsaft.

Von

**G. Klein und K. Pirschle.**

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien, Nr. 193 der II. Folge.)

*(Eingegangen am 12. Oktober 1923.)*

Während das im tierischen Organismus (Galle, tierische Fette) weit verbreitete Cholesterin durch zahlreiche Arbeiten, und insbesondere durch die Untersuchungen von *Windaus* weitgehend aufgeklärt wurde, ist über die pflanzlichen Phytosterine noch recht wenig bekannt. Jedenfalls hat sich die ursprüngliche Bezeichnung „Phytosterin“ — wie bei manchen anderen Pflanzenstoffen (Anthocyan, Flavon, Carotin) — in eine Gruppenbezeichnung aufgelöst, da aus Blättern, Rinden, Wurzeln, Blüten, Samen, Milchsäften und selbst bei niederen Pflanzen (Pilzen) schon eine ganze Reihe von Phytosterinen isoliert wurde, von denen allerdings oft nicht mehr als Name und empirische Formel bekannt sind; im allgemeinen sind es höhere, einwertige Alkohole, die zu den Terpenen in Beziehung stehen; inwieweit sie chemisch miteinander verwandt sind, wird sich erst ergeben, bis man über ihre Konstitution halbwegs einige sichere Anhaltspunkte gewonnen haben wird.

Wenn man die zahlreichen Namen liest und sieht, wie rasch oft einem kaum isolierten Körper Formel und Name zuerteilt wird, kann man sich eines gewissen Zweifels nicht erwehren, ob auch in allen diesen Fällen chemische Individuen vorlagen; besonders wenn man damit vergleicht, wie lange es gedauert hat, bis für das gewiß nicht komplizierter gebaute Euphorbon, das den Ausgangspunkt der nachstehenden Untersuchungen bildete, eine Formel, ja selbst die chemischen Konstanten (Schmelzpunkt, optisches Verhalten usw.) festgestellt wurden. Daß das Euphorbon zu den Phytosterinen gehört, ist zwar mit Sicherheit noch nirgends ausgesprochen, doch ist jetzt, auf Grund seiner Digitoninreaktion, nicht mehr daran zu zweifeln (vgl. S. 463).

**Euphorbon.**

Das Euphorbon als solches ist seit langem bekannt. Das Euphorbiumharz (der offizinell verwendete, getrocknete Milchsaft von Euphorbia resinifera, E. canariensis, auch E. antiquorum) wurde schon 1751 von *Neumann*[1]) analysiert, 1841 findet *Rose*[2]) ein kristallinisches Harz, welches nur Euphorbon gewesen sein kann. 1864 analysieren *Dragendorff* und *Alberti*[3]) die warzigen Ausscheidungen einer 100 Jahre alten Euphorbiumtinktur, ohne eine Formel aufzustellen. 1868 gibt *Flückiger*[4]) dem Körper den Namen „Euphorbon". Es folgen die Untersuchungen von *Buchheim* (1872), *Hesse* (1878), *Henke* (1886), *Orlow* (1899), *Ottow* (1903) und die zusammenfassende Darstellung von *Tschirch*[5]), schließlich 1908 eine Arbeit von *Emmerling*.

Trotz dieser zahlreichen Studien, welche über das Euphorbon angestellt wurden, ist über seine Chemie noch sehr wenig bekannt. Übereinstimmend werden als Eigenschaften angegeben:

Weiße, glänzende, luftbeständige Kristallnadeln ohne Geschmack, in Lösungen neutral.

Leicht löslich in Petroläther, Äther, Chloroform, Benzol, Aceton und heißem 96proz. Alkohol. In kaltem und besonders in verdünntem (40- bis 50proz.) Alkohol schwer- bis unlöslich. Unlöslich in Wasser (heißes Wasser löst 1 : 10000). In der Wärme löst Essigsäure mit hellgelber, rauchende Salpetersäure mit roter Farbe, desgleichen konzentrierte Schwefelsäure. Bromdampf löst zu einer dunkelbraunroten, schmierigen Masse.

Durch verdünnte Säuren, $Na_2CO_3$, NaOH, KOH usw. wird es nicht verändert. *Hesse*[6]) behauptet zwar, daß Euphorbon durch Erhitzen mit alkoholischem Kaliumhydrat verharzt, *Tschirch* erhält es aber selbst nach der Kalischmelze unverändert zurück. In der Tat wird es beim Kochen mit alkoholischer Kalilauge (oder NaOH), *wenn sie genügend verdünnt ist* (10proz.), nicht angegriffen (vgl. S. 460).

Schmelzpunkt: 67 bis 68° für aus Petroläther kristallisiertes Euphorbon, 115 bis 116° für aus Aceton (Alkohol) kristallisiertes. [Das Euphorbon besitzt nämlich die Fähigkeit, Petroläther molekular zu binden[7])].

*Hesse*[8]) und *Ottow* finden es optisch aktiv, was *Tschirch* entschieden bestreitet. Von *Emmerling*[9]) werden die Angaben *Ottows* bestätigt: $[\alpha]_D^{15} = +16{,}46^0$ (in Chloroform).

Die für das Euphorbon aufgestellten Formeln gehen noch recht weit auseinander:

*Dragendorff* und *Alberti*: C = 81,1 Proz., H = 11,00 Proz.
*Flückiger:* C = 79,9 Proz., H = 11,66 Proz.; $C_{26}H_{22}O_2$.

---

1) *Neumann*, Chym. med. 1751, II, 2, S. 403ff.
2) Poggendorffs Ann. d. Chem. u. Phys. 1841, S. 369.
3) Pharm. Zeitung f. Rußland **33**, 215, 1864.
4) Vierteljahrsschr. f. prakt. Pharm. **17**, 82, 1868.
5) *Tschirch*, Harze und Harzbehälter, 2. Aufl., **1**, 1032ff., 1906. Hier auch eine ausführliche Literaturzusammenstellung.
6) Liebigs Ann. **234**, 253, 1886.
7) Vgl. *Ottow*, Über das Euphorbon. Pharm. Arch. 1903, S. 241.
8) Liebigs Ann. **192**, 193. 1878.
9) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **41**, 1373ff., 1908.

*Hesse:* $C = 81,83$ Proz., $H = 11,00$ Proz.; $C_{15}H_{24}O$ (oder das Doppelte).
*Henke*[1]: $C = 82,20$ Proz., $H = 12,22$ Proz.; $C_{20}H_{36}O$.
*Ottow:* $C = 84,07$ Proz., $H = 11,45$ Proz.; $C_{27}H_{44}O$.
*Philippi*[2]: $C = 81,89$ Proz., $H = 11,88$ Proz.; mikroanalytisch.
*Tschirch:* $C = 84,81$ Proz., $H = 11,42$ Proz.; $C_{30}H_{48}O$.

*Emmerling* bestätigt die Formel von *Tschirch*; die zu niederen C-Zahlen der früheren Untersucher erklärt er damit, daß man sehr langsam und mit Bleichromat (nicht Kupferoxyd) verbrennen muß.

Da einer von uns gelegentlich einer Kautschukuntersuchung[3]) schon 1916 aus Asclepias syriaca einen Körper dargestellt hatte, der mit Euphorbon viel Ähnlichkeit besaß, war der Gedanke naheliegend, daß sich das Euphorbon nicht, wie bisher behauptet wurde[4]), nur auf die Euphorbiaceen beschränkt, sondern auch für andere, vielleicht alle Milchsäfte charakteristisch sei. Deshalb wurde versucht, es aus einer größeren Anzahl verschiedener Milchsäfte bzw. milchsaftführender Pflanzen kristallinisch darzustellen und die makrochemisch gewonnenen Ergebnisse durch einen mikrochemischen Nachweis zu erweitern. Auf die Chemie der erhaltenen Produkte näher einzugehen, lag nicht im Rahmen dieser Arbeit, doch sollen derartige Untersuchungen später ausgeführt werden.

### Methode der Darstellung.

*Hesse*[5]) verfährt wie folgt: „Das gröblich gepulverte Euphorbium wurde bei gewöhnlicher Temperatur mit Petroläther behandelt, welcher das Euphorbon, amorphes Harz und Kautschuk aufnahm. Beim freiwilligen Verdunsten der Lösung hinterblieb ein halbkristallinischer Rückstand, der an heißen Alkohol das Euphorbon und das amorphe Harz abgab. Beim Erkalten der Lösung trat milchige Trübung ein, und es schied sich ein schwer lösliches Harz (wohl *Roses* $\beta$-Harz) ab. Sobald die Kristallisation begann, wurde die Lösung von dem abgeschiedenen Harz abgehoben. Es erfolgte nun eine reichlichere Kristallisation von Euphorbon, welches durch zweimaliges Umkristallisieren aus heißem Aceton rein erhalten wurde. Dasselbe wurde nochmals aus heißem Alkohol umkristallisiert." Ähnlich verfährt *Henke*, auch *Emmerling* hält diese „von *Tschirch* und *Paul* angewandte" Methode für die beste, obwohl *Tschirch* selbst Extraktion mit heißem Petroläther empfiehlt[6]): „Wir extrahierten grob gepulvertes Euphorbium im Perkolator mit Petroläther bis zur Erschöpfung. Die erhaltenen Auszüge überließen wir der freien Verdunstung in flachen

[1]) Arch. d. Pharm. **124**, 729, 1886.
[2]) Monatshefte f. Chem. **33**, 461ff.
[3]) *Klein*, Einheimische Kautschukpflanzen. Zeitschr. f. landw. Versuchswesen f. Österr. 1917, S. 225.
[4]) *Wiesner*, Über die chemische Beschaffenheit des Milchsaftes der Euphorbiaceen. Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien 1912.
[5]) Liebigs Ann. **192**, 193ff., 1878.
[6]) l. c., S. 1046.

Schalen und benutzten zur Weiterverarbeitung nur die sich kristallisiert abscheidenden Anteile. Diesen Anteil lösten wir in heißem Alkohol und stellten die filtrierte Lösung zur Kristallisation. Beim Erkalten schied sich zuerst amorphes Harz ab; wir trennten dasselbe durch Abgießen von der Lösung und ließen die abgegossene Lösung weiter kristallisieren. Die abgeschiedenen und gesammelten Kristallmassen, die noch stark mit Harz verunreinigt waren, unterwarfen wir dann nochmals derselben Behandlung. Schließlich kristallisierten wir das erhaltene Euphorbon noch viele Male aus heißem Aceton um und erhielten dasselbe schließlich rein."

In der Tat lieferte die Methode: „Extrahieren mit kaltem Petroläther, freiwilliges Abdunstenlassen der Lösung und öfteres Umkristallisieren aus Aceton oder Alkohol" keine befriedigenden Resultate, nicht einmal beim Euphorbium, aus dem bis jetzt ausschließlich Euphorbon dargestellt wurde, geschweige denn bei anderem Pflanzenmaterial. Asclepias z. B., auf diese Weise behandelt, gab einen braunen, öligen Rückstand, der nicht kristallisierte. Es wurde daher nach vielen Versuchen folgender Gang der Darstellung, der sich sehr bewährte, eingehalten:

Das lufttrockene Pflanzenmaterial wurde bei 70 bis 80° nochmals getrocknet, fein gepulvert (die zäh zusammenhängenden Baststränge aus Stengeln, die sich schlecht oder gar nicht zerkleinern, wurden entfernt) und im Soxhlet mit Petroläther (Siedepunkt 30 bis 40°) etwa 24 Stunden extrahiert. Der hellgelbe bis dunkel gelbbraune Extrakt wurde bis auf ein Geringes vom Petroläther befreit; der überdestillierte Petroläther war vollkommen farblos und hinterließ, wenn man einige Tropfen verdunsten ließ, keinen Rückstand. Der eingeengte Extrakt wurde nun mit dem drei- bis vierfachen Volumen 10proz. alkoholischer NaOH etwa 12 Stunden am Rückflußkühler gekocht, vom abgeschiedenen Gummi usw. filtriert und die heiße Lösung in heißen 40- bis 50proz. Alkohol einfließen gelassen. Es trat momentan eine weiße, kristallinische Fällung ein, welche nach Abkühlen der Flüssigkeit abfiltriert wurde. Das Filtrieren bereitet einige Schwierigkeiten, da ein gewöhnliches Filter durch die noch immer vorhandenen kolloidalen Harze, Gummi usw. bald verstopft wird, während beim Filtrieren durch einen lockeren Glaswollebausch oder bei scharfem Saugen auf der Nutsche leicht auch Euphorbon mit durchgeht. Jedenfalls wurde das Filtrat nochmals angewärmt und mit etwas verdünntem Alkohol nachgefällt. Um nicht Substanz zu verlieren, ist es besser, lieber etwas von den kolloidalen Substanzen mit in Kauf zu nehmen, da sie sich durch die spätere Reinigung doch wegbringen lassen. Der Filterrückstand wurde in heißem Aceton aufgenommen, vom Ungelösten filtriert und die klare Lösung, die gewöhnlich noch gelblich gefärbt war, in Kristallisierschalen ausgegossen. Es zeigten sich in der Regel beim langsamen Abdunsten des Acetons die weißen Nadeln, Warzen, Nadelkugeln des Euphorbons, oft durch Verunreinigungen noch gelblich gefärbt, nur in wenigen Fällen hinterblieb schon eine weiße, schnee- bis wachsartige Masse.

Nach Abdunsten des Acetons durch Umkristallisieren reine Produkte zu erhalten, ist eine langwierige Prozedur. Rascher und leichter kommt man zum Ziele, wenn man sich einer von *Hess Taysen*[1]) zur Trennung

[1]) Diese Zeitschr. **62**, 100ff., 1914.

des Cholesterins von Seifen angewandten Methode bedient, d. h. die Verunreinigungen durch Schütteln mit Lauge verseift. Wie das Cholesterin wird auch das Euphorbon, worauf schon eingangs hingewiesen wurde, selbst von konzentrierter Lauge bei kurzer Einwirkung in der Kälte nicht angegriffen. Bei längerem Kochen mit starker Lauge (30- bis 50proz.) scheint es aber doch tiefergehende Veränderungen zu erleiden, da wir es daraus nicht mehr kristallisiert erhalten konnten.

Es wurde also der Acetonrückstand, gleichgültig ob kristallisiert oder nicht kristallisiert, mit heißem Petroläther aufgenommen — oft blieben da schon deutlich gummiartige Flocken zurück, welche abfiltriert wurden —, etwa auf die Hälfte eingeengt, die heiße, klare Lösung in einen Schütteltrichter gegossen und mit etwa dem gleichen Volumen 50proz. wässeriger $NaOH$ kräftig durchgeschüttelt, mit etwas Petroläther aufgefüllt und unter mehrmaligem Schütteln 12 Stunden stehengelassen. Die Lauge wurde dann abgelassen, der Äther zwei- bis dreimal mit einer etwa 5proz. $Na_2CO_3$-Lösung (wässerigen) durchgeschüttelt und schließlich, zur völligen Entfernung etwa noch vorhandener Lauge oder hydrolysierter Seifen, einigemal mit destilliertem Wasser gewaschen. Hatte sich die Ätherschicht beim Behandeln mit Lauge auch oft getrübt, so war sie am Schluß vollkommen klar und in den meisten Fällen ganz farblos. Die zum Schütteln verwendete Lauge und die $Na_2CO_3$-Portionen wurden nochmals mit etwas Petroläther gewaschen, um keinen Verlust zu erleiden, und die vereinigten Ätherausschüttelungen in Kristallisierschalen gegossen.

Nach Tunlichkeit verwendet man hohe Schalen, da der Äther gern in die Höhe kriecht. Nach kurzer Zeit zeigten sich in der Regel die schneeweißen Nadeln, Nadelbüschel, Stachelkugeln usw. des Euphorbons. War das Produkt noch gelblich oder durch nicht kristallisierende Substanzen verunreinigt, so wurde die Prozedur (Aufnehmen mit Petroläther, Schütteln mit Lauge usw.) wiederholt.

Das nach dieser Methode verarbeitete Material und die Ergebnisse sind auf S. 466 zusammengestellt.

### Mikrochemischer Nachweis.

Als einziger hat *Henke*[1]) versucht, das Euphorbon mikrochemisch nachzuweisen, indem er einen Milchsafttropfen verschiedener Euphorbiaarten am Objektträger eintrocknen ließ und unter den ausgeschiedenen Kristallen die petrolätherlöslichen Euphorbonkristalle von dem in Petroläther unlöslichen, aber wasserlöslichen Ca-Malat unterschied. Es ist uns nicht gelungen, durch einfaches Eintrocknenlassen eines Milchsafttropfens das Euphorbon zum Auskristallisieren zu bringen, und es erscheint auch nicht sehr wahrscheinlich, daß die im Milchsafte massenhaft vorkommenden kolloidalen Substanzen eine glatte Kristallisation zulassen; besonders wenn man bei der Reinigung des makrochemisch gewonnenen Produktes beobachten kann, wie nachteilig kolloidale Substanzen die Kristallisation beeinflussen. Erst nach Behandeln des eingetrockneten Milchsafttropfens mit Chloroform und

[1]) Arch. d. Pharm. **124**, 729ff., 1886.

langsamem Abdunsten erhält man unter Umständen strahlige oder sonnenförmige Kristalle von Euphorbon, die am Deckglasrande oder direkt am eingetrockneten Milchsafte anschießen. 3 bis 4 Wochen liegengelassene Milchsafttropfen, die, gleich nach dem Eintrocknen behandelt, direkt ein dichtes Nadelgeflecht gegeben hatten, zeigten auch nach Chloroformbehandlung keine derartigen Kristalle, und überhaupt ist diese Methode trotz ihrer Einfachheit kaum verwendbar. Nur bei reichlichem Vorkommen von Phytosterin ließ sich dieses aus einem Milchsafttropfen mit Aceton oder Äther in schönen Nadelbüscheln, einigemal auch in schönen Einzelkristallen darstellen (Campanula pyramidalis, Ferulago galbanifera, Ficus carica aus der Bocche di Cattaro). Ferulago zeigt in dem auf Insektenstich hin austretenden Sekrettropfen so reichlich Phytosterin, daß es beim Eintrocknen kristallisiert, während die normale Pflanze viel weniger führt.

Es wurde also versucht, zum mikrochemischen Nachweis des Euphorbons einerseits das Vorhandensein von Doppelbindungen, andererseits seine Zugehörigkeit zu den Phytosterinen heranzuziehen.

*Doppelte Bindungen* sind im Euphorbonmolekül, so wenig auch sonst noch über seine Konstitution bekannt ist, sicher vorhanden; es wäre sonst unmöglich, ein Bromadditionsprodukt darzustellen (*Orlow*, *Ottow*, *Emmerling*). Aus diesem Grunde wurden — wegen Materialmangels in kleinen Eprouvettenversuchen — die von *Meyer*[1]) zusammengestellten Reaktionen auf Doppelbindungen der Reihe nach durchprobiert:

1. Mit Permanganat nach *Baeyer*.
2. Osmiumtetroxydreaktion nach *Neubauer*.
3. Bromaddition in einem indifferenten Lösungsmittel: Essigsäure, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Alkohol (vgl. S. 469).
4. Addition von Nitrosylchlorid.
5. Anlagerung von Halogenwasserstoff.
6. Reduktion durch naszierenden Wasserstoff.
7. Farbenreaktion mit Tetranitromethan.

Das Hauptaugenmerk war darauf gerichtet, eine eindeutige Farbenreaktion oder noch lieber eine gut kristallisierende Verbindung zu erhalten, doch ließen sich mit keiner dieser Methoden befriedigende, geschweige denn mikrochemisch brauchbare Resultate erzielen.

Was die *Zugehörigkeit des Euphorbons zu den Phytosterinen* anbelangt, so ist sie nirgends klar ausgesprochen.

---

[1]) *H. Meyer*, Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen. Berlin 1916.

*Euler*[1]) und *Rosenthaler*[2]) führen zwar das Euphorbon unter den Phytosterinen an, doch ohne einen Beweis dafür aufzustellen oder auf diesbezügliche Literatur zu verweisen. *Emmerling* scheint an Beziehungen zu den Sterinen gedacht zu haben, da er zur Nitrierung die von *Windaus* beim Cholesterin erprobte Methode anwendet und auch beim Euphorbon Dinitro-Isopropan erhält, ohne sich aber über die systematische Stellung irgendwie auszusprechen.

*Durch die Tatsache, daß das Euphorbon mit alkoholischer Digitoninlösung eine gut kristallisierende Verbindung gibt, die sich in nichts von der für Sterine charakteristischen unterscheidet, scheint seine Zugehörigkeit zu den Phytosterinen sichergestellt.*

Alkoholische Digitoninlösung wurde von *Windaus*[3]) zur quantitativen Bestimmung des Cholesterins angewendet, und seine Verwendbarkeit von *Hess Taysen*[4]) kritisch überprüft.

Da das Digitoninsterid ausgezeichnet kristallisiert, lag der Gedanke nahe, die Methode mikrochemisch zu verwerten. Inzwischen ist von *Brunswik*[5]) eine Arbeit über den mikrochemischen Nachweis der Phytosterine mit Digitonin erschienen, nach der Euphorbium nicht reagiert. Da es uns gelungen ist, sowohl mit reiner Substanz als auch mit Euphorbium, ferner im Milchsafte zahlreicher Euphorbiaceen — aus denen ein anderes Phytosterin nicht bekannt ist, wohl aber hat *Henke* Euphorbon nachgewiesen — eindeutige Resultate zu erhalten, scheint der negative Ausfall der Reaktion bei *Brunswik* darauf zurückzuführen zu sein, daß er, die genauen Angaben von *Windaus* nicht berücksichtigend, kalte statt heißer Lösung verwendet, die das Phytosterin aus dem Stoffgemenge nicht genügend löst. Bei *Abwesenheit von Harzen, Kautschuk* usw. geht die Reaktion auch in der Kälte, doch erhält man in der Hitze jedenfalls bessere und schönere Resultate.

Einen Tropfen heißer Digitoninlösung zuzusetzen, ist unpraktisch, da am kalten Objektträger die minimale Menge Alkohol doch gleich auskühlt. Wir verfahren also in der Art, daß wir zum Präparat (eingetrockneter Milchsafttropfen, Gewebeschnitt) unter Deckglas etwas 96proz. Alkohol zufügen, am Wasserbade auf etwa die Hälfte abdampfen und dann rasch Digitoninlösung (etwa 1 Proz. in 96proz. Alkohol) zufließen lassen. Einerseits gehen dabei die Phytosterine, die in heißem Alkohol leichter löslich sind als in kaltem, in Lösung, andererseits ist der Objektträger genügend vorgewärmt, so daß sich

---

1) *Euler*, Grundlagen der Pflanzenchemie, S. 135, 1908.
2) *Rosenthaler*, Der Nachweis organischer Verbindungen, S. 96. Stuttgart 1914.
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. **65**, 110, 1910.
4) Diese Zeitschr. **62**, 93ff., 1914.
5) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. **39**, 316, 1922.

die Reaktion in der Hitze abspielen kann. Ein zellokalisierter Nachweis ist auf diesem Wege natürlich nicht möglich, da das gelöste Phytosterin sofort heraustritt, doch erreicht man ihn auch nicht, wenn man kalt arbeitet; und letzten Endes wäre er bei der Untersuchung von Milchsafttropfen auch gleichgültig.

Sofort oder nach kurzer Zeit (1 bis 2 Minuten) zeigen sich am Deckglasrande und in der Nähe des Objektes die charakteristischen scheibchenförmig flachen Nadelbüschel des Reaktionsproduktes, unter Umständen Nadelgruppen, Sphärite, Schollen. Treten derartige Formen erst nach einiger Zeit auf (besonders am Deckglasrande), so können sie vom Reagens allein herrühren, das ähnlich kristallisiert. Beim Eintrocknen lagern sich aber die Digitoninschollen und -sphärite in vielfach verzweigte, haardünne Nadelbüschel um, während das Reaktionsprodukt Stachelkugeln gibt (die infolge ihres warzigen Aussehens manchmal gewissen Pollenkörnern ähneln). Übrigens läßt sich auskristallisiertes Digitonin durch mehrmaliges Durchsaugen von heißem Alkohol (am besten am Wasserbade) in Lösung bringen, das Phytosterid bleibt ungelöst.

Zweckmäßig ist unter Umständen (bei eingetrockneten Milchsäften, Harzen) eine vorhergehende Behandlung mit Chloroform, einfach indem man unter Deckglas etwas Chloroform zufließen und langsam abdunsten läßt. Es wird dadurch eine gewisse Auflockerung bewirkt und man erhält bessere Resultate.

Mit Hilfe der Digitoninmethode ist ein bequemer, eindeutiger und dabei sehr empfindlicher Nachweis der Sterine möglich. Die bis jetzt in Anwendung gebrachten Reagenzien ließen den mikrochemischen Nachweis noch recht mangelhaft erscheinen; es sind an Cholesterin erprobte Farbenreaktionen, meist mit Schwefelsäure und verschiedenen Zusätzen, die einerseits nur teilweise mit Phytosterinen eintreten, andererseits ist ihre mikrochemische Anwendung unmöglich oder unbequem, da durch die konzentrierte Schwefelsäure die Objekte rasch verkohlen.

Wir hatten diese von *Czapek*[1]) zusammengestellten Sterinreaktionen mit Cholesterin, Paracholesterin von Aethalium septicum, mit Phytosterinen von Pholiota squerrosa, Polysaccum crassipes und Gleditschia triacanthos[2]), ferner mit den von uns dargestellten Kristallprodukten zunächst makrochemisch in Eprouvettenversuchen durchgeprüft:

---

[1]) *Czapek*, Biochemie der Pflanzen, **1**, 786. Jena 1913.

[2]) Für die Überlassung dieser Präparate sind wir Herrn Professor *Zellner* (Wien) zu Dank verpflichtet.

1. Reaktion von *Salkowski-Hesse* mit Chloroform-Schwefelsäure.

2. Cholestolprobe nach *Liebermann* mit Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure.

3. Reaktion von *Golodetz* mit Schwefelsäure-Formaldehyd.

4. Reaktion von *Lifschütz* mit Eisessig-Bleisuperoxyd-Schwefelsäure.

5. Reaktion von *Mach* mit Salzsäure-Eisenchlorid.

6. Reaktion von *Neuberg-Rauchwerger* mit Rhamnose-Schwefelsäure.

Die Reaktionen ließen sich mit Cholesterin schön durchführen, weniger gut mit den Phytosterinen (am besten 1. und 6., eventuell 5.) und versagten mehr als einmal. Wo Schwefelsäure in Anwendung kam, zeigte diese überall, besonders nach einigem Stehen, eine *intensive, eosinartige Fluoreszenz* (im durchfallenden Lichte rot bis rotorange, im auffallenden gelbgrün). Übrigens gibt schon *Czapek* an, daß einzelne der Reaktionen keine allgemeine Gültigkeit haben, mikrochemisch lassen sie sich nicht verwerten. Auch die von *Tunmann*[1]) mikrochemisch modifizierte *Salkowski-Hesse*-Reaktion mit Chloroform-Schwefelsäure gibt doch zu ungenaue Resultate. Und wenn man schon, wie *Tunmann* empfiehlt, die Reaktion nicht am Objekt selbst, sondern im Sublimat, also gewissermaßen mit reiner Substanz, machen will, so ist der Nachweis mit Digitonin wegen seiner hohen Empfindlichkeit jedenfalls exakter.

Was die Sublimation der Sterine anbelangt, so sind die Befunde *Tunmanns* zu bestätigen. Cholesterin sublimiert leicht und schön in farblosen, prismatischen Kriställchen, mit Phytosterinen erhält man, wenn man in der gewöhnlichen Weise sublimiert, Tröpfchen, hier und da scheint sich, in Tröpfchen eingeschlossen, ein Kristall auszubilden, was im Polarisationsmikroskop deutlicher hervortritt. Sublimiert man im Vakuum (1 bis 2 mm Druck), zweckmäßig mit Hilfe eines von *Werner*[2]) zur Sublimation im Vakuum konstruierten Apparates, so gelingt es, besonders wenn man längere Zeit sublimiert und dafür die Temperatur recht niedrig hält, deutlich ausgebildete Nädelchen, auch Nadelbüschel zu erhalten. Sie sind aber doch zu wenig charakteristisch, und man wird auf eine Prüfung des Sublimats mit alkoholischer Digitoninlösung nicht verzichten können.

### Verbreitung.

Makrochemisch konnten aus folgenden Pflanzen kristallisierende Produkte (weiße Nadeln, Nadelbüschel usw.) isoliert werden, die prompt die Digitoninreaktion gaben und daher als Phytosterine anzusprechen sind.

[1]) *Tunmann*, Pflanzenmikrochemie, S. 172. Berlin 1913.

[2]) Zeitschr. „Mikrochemie", 3. Heft, 1923.

| Name | Material | Schmelzpunkt[1]) aus Petroläther | Schmelzpunkt[1]) aus Alkohol (Aceton) | Bekannte Sterine i. Milchsaft von gleichem Schmelzpunkt |
|---|---|---|---|---|
| Euphorbia resinifera | Euphorbium | 67—68°[2]) | 116° | Euphorbon |
| Icica Icicariba | Elemiharz | 66° | 114—115° | F = 67° aus Petroläther, 115—116° aus Aceton (Alkohol) |
| Castilloa elastica | Rohkautschuk | 65—67° | Konnte nicht bestimmt werden, da die aus Petroläther prächtig kristallisierenden Substanzen aus heißem Alkohol umkristallisiert eine schmierige Masse gaben, die nicht trocken zu bekommen war | |
| Scorzonera hispanica | Wurzel | 67° | | |
| Chelidonium majus | Wurzel | 67° | | |
| Campanula pyramidalis | Blätter | 68° | | |
| Ficus carica | Blätter | 116—117° | | Würde mit Euphorbon übereinstimmen, doch ist der Petrolätherschmelzpunkt der gleiche wie aus Alkohol (Aceton) |
| Convolvulus Scammonium | Gummiharz | 115—116° | | |
| Maclura aurantiaca | Früchte | 147—148° | | Cynanchocerin F = 147° |
| Asclepias syriaca | Blätter und Stengel | 146—147° | | |
| Parthenium argentatum | Guayule[3]) (roh) | 127—128° | | |

[1]) Als Schmelzpunkt wurde die Temperatur angegeben, bei der sich der Körper in der Kapillare zu einem Tröpfchen zusammenzieht, also vollständig geschmolzen ist; die Substanzen beginnen meist mehrere Grade vorher weich zu werden oder zusammenzusintern.

[2]) Ein aus Petroläther kristallisiertes, etwa 4 Jahre altes Produkt schmolz merkwürdigerweise bei 97°. Frisch umkristallisiert, zeigte es wieder den normalen Schmelzpunkt (Petroläther 67°, Alkohol 116°). Es scheint also der Petroläther nur locker festgehalten zu werden und bei längerem Liegen abzudunsten, so daß für petrolätherfreies Euphorbon der Schmelzpunkt 116° gilt.

[3]) Während im übrigen (Euphorbium ausgenommen) die Ausbeute 0,1 bis 2 Proz. vom lufttrockenen Material betrug, erhielten wir hier 60 bis 70 Proz. vom angewandten Rohguayule rein; was sich daraus erklärt, daß der Guayule nicht einen getrockneten Milchsaft darstellt, sondern durch Extraktion der ganzen Pflanzen gewonnen wird (vgl. Der Tropenpflanzer **11**, 460, 1907). Von der ursprünglichen Extraktion mit Schwefelkohlenstoff, die jedenfalls den reinsten Kautschuk lieferte, ist man wegen der großen Explosionsgefahr bald abgekommen. Doch werden auch bei dem jetzt üblichen Kochen mit kaustischen Alkalien, analog unserem Verseifungsverfahren, die Harze usw. gelöst bzw. hydrolysiert, so daß man im Guayule schon verhältnismäßig reines Produkt vor sich hat.

| Name | Material | Schmelzpunkt aus Petroläther | Schmelzpunkt aus Alkohol (Aceton) | Bekannte Sterine i. Milchsaft von gleichem Schmelzpunkt |
|---|---|---|---|---|
| Taraxacum officinale | Wurzel | 85—86° | | |
| Papaver sp. | Opium (roh) | Es stand uns so wenig Material zur Verfügung, daß die wenigen resultierenden Kriställchen zu einer Schmelzpunktbestimmung nicht ausreichten | | |
| Strutanthus syringifolius | Früchte | | | |
| Ferulago galbanifera | Stengel | Durch unvorsichtiges, zu jähes Trocknen der aus Petroläther kristallisierten, gereinigten Substanz im Trockenschrank hinterblieb eine schmierige Masse, mit der eine exakte Schmelzpunktbestimmung nicht durchgeführt werden konnte. Um schöne Kristalle zu bekommen, ist ein möglichst langsames, freiwilliges Abdunsten des Lösungsmittels unbedingt erforderlich. | | |
| Lactuca sativa | Blätter und Wurzel | | | |
| Hieracium umbellatum | Blätter | | | |
| Papaver paeoniflorum | Fruchtkapseln | | | |

Mikrochemisch wurde mit alkoholischer Digitoninlösung in der angegebenen Weise geprüft[1]):

*Euphorbiaceae:*

| | | | |
|---|---|---|---|
| Euphorbia | resinifera | + | Euphorbium |
| ,, | ceratocarpa | + | Milchsaft |
| ,, | dulcis | + | ,, |
| ,, | trigonocarpa | + | ,, |
| ,, | palustris | + | ,, |
| ,, | pannonica | + | ,, |
| ,, | subhastata | + | ,, |
| ,, | nicaeensis | + | ,, |
| ,, | verrucosa | + | ,, |
| ,, | esuloides | + | ,, |
| ,, | austriaca | + | ,, |
| ,, | antiquorum | + | ,, |
| ,, | splendens | + ! | ,, |
| ,, | Wulffenii | + | ,, |
| ,, | lathyris | + | ,, |
| ,, | cyparissias | + ! | ,, |
| ,, | amygdaloides | + | ,, |
| ,, | helioscopia | + | ,, |
| ,, | myrsinites | + | ,, |
| Poinsettia | pulcherrima | + ! | ,, |

Kein Phytosterin konnte aus Drachenblut (Dracaena Cinnabari), Galbanum (Ferula erubescens) und Asa foetida (Ferula asa foetida) erhalten werden.

[1]) + positiver, 0 negativer Ausfall der Reaktion; ! reichlich, § spärlich, eben noch nachweisbar.

*Campanulaceae:*

| | | |
|---|---|---|
| Campanula carpathica | + | Milchsaft |
| ,, alliariaefolia | + | ,, |
| ,, persicifolia | + | ,, |
| ,, ,, | + | Knolle |
| ,, patula | + | Stengel |
| ,, latifolia | + § | ,, |
| ,, trachelium | + § | ,, |
| ,, lactiflora | + § | ,, |
| ,, glomerata | + | Milchsaft |
| ,, rapunculoides | + | ,, |
| Phyteuma spicatum | + ! | ,, |
| ,, orbiculare | + | ,, |

*Compositae:*

| | | |
|---|---|---|
| Lactuca viminea | + | Milchsaft |
| ,, perennis | + § | Stengel |
| ,, sativa | + § | Milchsaft |
| Scorzonera hispanica | + | ,, |
| Prenanthes purpurea | + § | ,, |
| Hieracium canescens | 0 | ,, |
| ,, virosum | 0 | ,, |
| Taraxacum officinale | + | ,, |
| Sonchus oleraceus | + § | ,, |
| ,, arvensis | + § | ,, |
| Tragopogon pratense | + § | ,, |
| Crepis rhoeadifolia | + § | Wurzel |
| Tussilago farfara | + ! | Stengel |

*Papaveraceae:*

| | | |
|---|---|---|
| Papaver lateritium | + | Milchsaft |
| ,, nudicaule | + | ,, |
| ,, rhoeas | + | ,, |
| ,, orientale | + § | Stengel |
| ,, paeoniflorum | + | ,, |
| Chelidonium majus | + | Milchsaft |
| Dicentra spectabilis | + | Stengel |

*Moraceae:*

| | | |
|---|---|---|
| Morus nigra | + | Blatt |
| Ficus carica | + ! | Blatt und Stengel |
| ,, elastica | + ! | Milchsaft |
| ,, stipulata | + | ,, |
| ,, Parcelli | + | ,, |
| Cannabis sativa | 0 | Blatt und Stengel |
| Humulus lupulus | 0 | Stengel |

*Loranthaceae:*

| | | |
|---|---|---|
| Strutanthus syringifolius | + | Frucht |
| Phtirusa theobromae | + § | ,, |

*Asclepiadaceae:*

| | | |
|---|---|---|
| Asclepias syriaca | + | Blatt |
| Cynanchum vincetoxicum | + § | Stengel |

*Apocynaceae:*

| | | |
|---|---|---|
| Allamanda cathartica . . . . . . . | + | Milchsaft |
| Vinca major . . . . . . . . . . . | 0 | Blatt |

Selbstverständlich kann ein positiver Ausfall der Reaktion nicht als Euphorbonnachweis gedeutet werden, da alkoholisches Digitonin ein Gruppenreagens auf Phytosterine im allgemeinen ist. Was aber den Nachweis *im Milchsaft* anbelangt, so sind bis jetzt an Phytosterinen im Milchsaft isoliert worden[1]):

Cynanchocerin aus Cynanchum acutum.
Lactucerin aus Lactuca virosa, von *Hesse* in die Isomeren α- und β-Lactucerol ($C_{18}H_{30}O$) zerlegt.
Lactucon aus Lactuca sp., $C_{23}H_{36}O_2$.
Lactucin aus L. sativa und L. altissima, $C_{22}H_{18}O_7$ oder $C_{22}H_{14}O_2$.
Lupeol ($C_{31}H_{50}O$) aus Alstonia costulata, zusammen mit α- und β-Amyrin, daneben Alstol, Alstonin, Isoalstonin.
β-Amyrin (als Acetat) aus Asclepias syriaca.
Lupeol und Amyrinester in Kautschuksorten.
Mudarin ($C_{30}H_{48}O_2$) und Akundarin ($C_{38}H_{64}O_2$) aus Calotropis gigantea.
Taraxacin aus Taraxacum officinale.

Es bleibe dahingestellt, worauf schon eingangs hingewiesen wurde, ob es sich hier durchweg um chemische Individuen handelt; inwieweit die Körper miteinander verwandt sind, entzieht sich vorherhand noch der Beurteilung. Übrigens erklärt *Hesse* (auf Grund seiner Euphorbonformel $C_{15}H_{24}O$): „Das Euphorbon ist isomer dem Lactucon und Lactucerin, mit dem es auch *mehrere Eigenschaften gemeinsam* hat. Vielleicht kommt beiden die doppelte Formel zu und sie wären dann isomer zum Echicerin (vielleicht auch Cynanchocerin)". Und *Tschirch* hat auf Grund seiner Elementaranalysen an eine Isomerie zum Amyrin gedacht, sich aber doch für die, dann von *Emmerling* bestätigte Formel $C_{30}H_{48}O$ entschieden:

| Gefunden | Berechnet für Amyrin $C_{30}H_{50}O$ | für Euphorbon $C_{30}H_{48}O$ |
|---|---|---|
| C = 84,63 Proz. | 84,51 Proz. | 84,81 Proz. |
| H = 11,53 „ | 11,74 „ | 11,42 „ |

*Jedenfalls kann festgestellt werden, daß Euphorbon nicht für die Euphorbiaceen allein charakteristisch ist, sondern auch im Milchsaft anderer Pflanzengruppen vorhanden ist, und daß in allen untersuchten milchsaftführenden Pflanzen teils makro- (18), teils mikrochemisch (etwa 60 Formen) Phytosterine in für diesen Körper beträchtlichen Mengen gefunden werden konnten. Bei den Euphorbiaceen dürfte es sich jedenfalls um Euphorbon handeln, bei den anderen Familien — soweit die makrochemisch gewonnenen Resultate einen solchen Schluß zulassen — um Euphorbon oder einen diesem sehr nahe stehenden Körper. Danach können die Phytosterine als für die Pflanzenmilchsäfte charakteristische Stoffe bezeichnet werden.*

## Derivate.

*Bromid:* Durch Einwirkung von Brom auf Euphorbon*lösung* (in Alkohol, Essigsäure, Chloroform) einen greifbaren Körper zu erhalten, gelingt nicht. Wohl aber resultierte ein solcher, wenn wir Bromdampf (unter einer Glocke) auf feste Substanz längere Zeit einwirken ließen und

[1]) Nach der Zusammenstellung in *Czapek*, Biochemie der Pflanzen. Hier nähere Literatur.

die schmierige Masse aus heißem Alkohol umkristallisierten. Wir erhielten zwar nicht die von *Emmerling*[1]) beschriebenen gelben, schuppenförmigen Kristalle, sondern es hinterblieb eine gelbbraune, unter dem Mikroskop deutlich kristallinische Masse, die aber bei 83° scharf schmolz. Desgleichen konnte mit Guayule ein Bromprodukt erhalten werden.

*Benzoat:* Nach *Emmerlings* Angaben eine Benzoylverbindung darzustellen, gelang weder mit Euphorbon, noch mit den aus Maclura und Guayule isolierten Phytosterinen. Die massenhaft erhaltenen, prächtigen Nadeln und Blättchen erwiesen sich durch Schmelzpunkt (121°) und Mikroreaktionen (Sublimation, Silbernitrat) als reine Benzoesäure.

*Nitroverbindung:* In wenig rauchender Salpetersäure löst sich Euphorbon unter heftigem Aufschäumen und starker Entwicklung von gelbroten Dämpfen zu einer dunkel orangeroten Flüssigkeit, die, in Wasser einfließen gelassen, momentan eine käsige Fällung von gelben Flocken gibt. Nach Filtrieren, Waschen und Trocknen des Niederschlages bleibt ein goldgelbes Pulver zurück, das auch aus Lösungsmitteln nicht kristallisiert erhalten werden konnte.

Unlöslich in Wasser, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, Salzsäure; löslich in Äther, Aceton, heißem 96proz. Alkohol (kalter löst schlecht); sehr leicht löslich in wässeriger Lauge (50proz. NaOH) oder $Na_2CO_3$-Lösung mit braun- bis ziegelroter Farbe. Bei Zusatz von Salzsäure wird die Lösung zunächst zitrongelb, dann scheidet sich der ursprüngliche Körper wieder ab.

Ein ähnlicher Körper konnte auch mit Guayule, Elemi, Maclura, Asclepias erhalten werden. Die resultierende Verbindung war um etwa 5 Proz. schwerer (z. B. 1,98 g Guayule, aus Aceton kristallisiert, gaben 2,09 g bei 70° getrocknetes Produkt).

Mikrochemisch ist die Reaktion kaum verwendbar; einerseits ist ihre Handhabung (Einlegen des Objektes in $HNO_3$, Zufügen von Wasser, Eindampfen, Aufnehmen mit $Na_2CO_3$ oder NaOH) überhaupt im Vergleich zur Digitoninmethode zu umständlich, und dann ist wohl jede Mikroreaktion, welche eine gut kristallisierende Verbindung gibt, die eventuell noch auf Löslichkeitsverhältnisse geprüft werden kann, ungleich wertvoller als eine, nicht einmal lokalisiert auftretende Farbenreaktion.

*Hydrolyse:* Daß Euphorbon nach längerem Kochen mit starker (30proz.) Lauge nicht mehr kristallisiert zurückerhalten werden konnte (desgleichen Opium, Chelidonium; Guayule scheint wenig angegriffen zu werden), wurde bereits erwähnt. Mit Salzsäure trat eine alkohollösliche weiße Fällung ein, die in Äther aufgenommen und gegen 10proz. $NaHCO_3$-Lösung geschüttelt wurde. Der nach Neutralisation der Carbonatlösung mit HCl entstehende Niederschlag wurde in Alkohol gelöst. Nach Abdunsten des Lösungsmittels hinterblieb sowohl in dieser, als auch in der Ätherfraktion eine harzartige, braune Masse, mit der nicht viel anzufangen war, so daß nach wie vor die Frage nach den Spaltungsprodukten offen bleibt.

## Zur Physiologie der Phytosterine.

Es ist klar, daß man über die physiologische Bedeutung der Phytosterine im Milchsaft ein klares Bild nur durch ausgedehnte Kulturversuche gewinnen könnte, doch lassen sich auf Grund der vorliegenden Untersuchungen immerhin einige Anhaltspunkte geben.

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **41**, 1373ff., 1908.

Beim Vergleich von Schatten- und Sonnenpflanzen derselben Art zeigte sich eine deutliche Anreicherung von Phytosterin in den auf sonnigen Standorten gewachsenen Individuen. Während ein Milchsafttropfen oder Gewebeschnitt von beschatteten Objekten die Digitoninreaktion schlecht oder gar nicht gab, erfolgte bei Sonnenpflanzen eine reichliche Ausfällung des Kristallproduktes (Papaver somniferum, Euph. cyparissias, Campanula rapunculoides). (Da die Digitoninfällung quantitativ verläuft, gibt sie nicht nur einen qualitativen Nachweis von Sterin, sondern läßt auch Schlüsse über die vorhandene Menge zu.) Desgleichen konnte eine reichliche Anhäufung von Phytosterin bei Pflanzen beobachtet werden, die unter günstigen Vegetationsbedingungen gezogen worden waren; Objekte aus den Rothschildgärten in Wien gaben die Reaktion bei weitem schöner und intensiver als Vergleichsexemplare anderer Herkunft (Ficus carica, Ficus stipulata).

Wie sehr Klima bzw. die damit gegebenen Außenfaktoren (besonders Licht und Wärme) die jeweilige Phytosterinmenge bestimmen, sei durch folgende Beispiele gezeigt: Vinca minor von Spalato gab reichlich Milchsaft und Phytosterin, während die im Schatten hiesiger Gärten (Wien-Kahlenbergerdorf) gezogenen kaum ein Safttröpfchen gaben, das kein Phytosterin zeigte. Morus nigra aus der Umgebung von Cattaro gab dicken gelblichen Milchsaft, in dem makro- und mikrochemisch Phytosterin gefunden wurde, eine Mikroprobe mit Blättern aus dem Wiener Botanischen Garten fiel negativ aus. Makrochemisch war besonders interessant, daß Asclepias aus Kroatien und Dalmatien etwa das Siebenfache an Phytosterin gegenüber einer in einem Wiener Garten gezogenen, Ficus carica von den Hängen über Risano das Fünffache von den bei Wien im Freien gewachsenen gaben, die wieder weniger zeigten als üppig im Glashause gezogene. Campanula pyramidalis, 1400 m über Cattaro, strotzte von Milch, die beim Verletzen direkt herausperlte und am Objektträger aus Aceton prachtvoll rhombische Kristalle gab, während hier gezogene nicht viel mehr Milch und Phytosterin zeigen als die anderen einheimischen Campanulaceen. Auch die Höhenlage scheint maßgebend zu sein, da Ficusbäume an der Dalmatinischen Küste immer mehr wässerigen blaustichigen, 700 bis 1000 m über dem Meere stehende dicken gelblichen Milchsaft gaben.

Schließlich wäre noch zu bemerken, daß beim Welken der Pflanzen der Milchsaft aus den Stengeln sehr rasch verschwindet bzw. schon nach kurzer Zeit, ohne daß man noch im geringsten von einem Austrocknen der Pflanze sprechen könnte, aus einer Schnittfläche kein Milchsaft mehr austritt. Stellt man die Pflanze in Wasser, so erfolgt wie früher bei Verwundung reichliche Absonderung von Milchsaft, der allerdings mehr eine bläulich-opalisierende, im Gegensatz zu der porzellanweißen oder elfenbeingelben Farbe in frischem Zustande zeigt. Dieser allgemein beobachtete Umstand läßt wohl darauf schließen, daß einerseits wasserarmer Milchsaft sehr begierig wieder Wasser aufnimmt, und legt andererseits die Vermutung nahe, daß die Pflanze beim Welken die Milchsaftbehälter als Wasserreservoir benutzt, aus dem sie noch eine Zeitlang ihren Wasserbedarf decken kann; denn in einem Zustande, wo aus den Milchröhren nur noch winzige Tröpfchen Milchsaft austraten, gaben angeschnittene Markzellen noch reichlich Wasser ab.

Hier wären auch Beobachtungen von *Kassner*[1]) anzuführen, der bei Asclepias syriaca zeigen konnte, daß beim Trocknen von Blättern und

[1]) Arch. d. Pharm. **224**, 97, 1886.

Stengel gemeinsam der Milchsaftgehalt (an Kautschuk gemessen) der Blätter auf Kosten der Stengel zunimmt; weshalb er vermutet, „daß beim gemeinschaftlichen Trocknen der noch verbundenen Blätter und Stengel anfänglich zuerst die Blätter einschrumpfen und daß dann ihre infolgedessen schlaff werdenden Milchsaftschläuche das Bestreben haben, sich immer wieder aus dem Inhalt des viel saftreicheren und wegen seiner Dicke schwer austrocknenden Stengels anzufüllen". Dadurch tritt Konzentration des Milchsaftes in den Blättern ein:

| | | |
|---|---|---|
| Blätter für sich . . . . . . . | 1,33 | Reinkautschuk |
| Blätter am Stengel . . . . . | 1,61 | „ |

Es fände damit auch die oben angeführte Beobachtung eine Erklärung, daß nämlich der Stengelmilchsaft von welkenden und dann in Wasser gestellten Pflanzen mehr bläulich und dünnflüssig erscheint: Durch die welkenden Blätter wird dem Stengel Milchsaft entzogen, der eintrocknende Milchsaft nimmt dann begierig wieder Wasser auf, doch erscheint das kolloidale System gestört, als daß die ursprüngliche Konsistenz wieder erreicht werden könnte.

Jedenfalls gehört der Milchsaft nicht zu den für die Pflanze nutzlosen Exkreten, die höchstens sekundär noch eine ökologische Funktion (Wundverschluß, Schutzmittel gegen Tierfraß usw.) annehmen können, sondern steht noch in engen, physiologischen Beziehungen zum Stoffwechsel.

## Zusammenfassung.

Zur Reindarstellung von Phytosterinen aus milchsaftführenden Pflanzen wird eine Methode angegeben, die das sonst notwendige, zeitraubende, vielmalige Umkristallisieren des erhaltenen Produktes durch einfache Hydrolyse der die Kristallisation hemmenden Substanzen ersetzt.

Der bis jetzt mangelhafte Nachweis der Phytosterine ist auch mikrochemisch mit 1 proz. alkoholischer Digitoninlösung leicht und eindeutig durchführbar.

Auf Grund dieser Reaktion ist für das Euphorbon seine Zugehörigkeit zu den Phytosterinen erwiesen. Euphorbon ist nicht nur für die Euphorbiaceen charakteristisch, sondern findet sich auch in anderen Pflanzengruppen.

Makrochemisch wurden Euphorbon und andere Phytosterine aus 18 Arten der verschiedenen milchsaftführenden Pflanzenfamilien dargestellt, mikrochemisch in allen untersuchten, zugänglichen Milchsäften (etwa 60 Arten) Phytosterine gefunden, während verwandte, nicht milchsaftführende Pflanzen vielfach negative Resultate gaben.

Das Vorkommen von Phytosterin (in relativ großen Mengen, 0,1 bis 2 Proz.) ist also für den Pflanzenmilchsaft charakteristisch.

An Derivaten konnte ein Bromid und eine Nitroverbindung dargestellt werden.

Zur Physiologie der Phytosterine, sowie des Milchsaftes überhaupt, konnten neue Anhaltspunkte gegeben werden.

# Zum Kreislauf des Schwefels im Boden.

(Ein Beitrag zur Biologie der Thiosulfatbakterien.)

Von

**G. Klein und A. Limberger.**

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien, Nr. 205 der zweiten Folge.)

*(Eingegangen am 12. Oktober 1923.)*

## I. Historisches.

Unter den Bakterien, die für den Stoffkreislauf in der Natur von größerer Bedeutung sind, ist die Gruppe der sogenannten Thiosulfatbakterien [nach *Omelianski*[1]) Thionsäurebakterien] nicht sehr allgemein bekannt. Schuld daran mag ihr Name sein, der ihrer Wichtigkeit nicht genügend Ausdruck gibt, und das geringere Interesse, das die Landwirtschaft dem Schwefelkreislauf, für den sie maßgebend sind, ganz im Gegensatz etwa zum Stickstoffhaushalt, entgegenbringt.

Sie wurden im Jahre 1902 von *Nathansohn*[2]) im Meerwasser gefunden und er hat gezeigt, daß sie imstande sind, durch Oxydation von Natriumthiosulfat in rein anorganischer Lösung zu Tetrathionsäure und Sulfat die nötige Energie zur Assimilation der Kohlensäure zu gewinnen.

Im nächsten Jahre fand *Beijerinck*[3]) außer der bereits festgestellten Form im Meer- und Süßwasser noch eine zweite, die äußerlich der ersten vollkommen ähnlich, den zur Oxydation nötigen Sauerstoff durch Denitrifikation von Salpeter gewinnt. Die Untersuchungen von *Lieske*[4]) wiesen nach, daß es alle Abstufungen von aeroben bis zu streng anaeroben Thiosulfatbakterien gibt, deren physiologische Eigentümlichkeiten auch sonst keineswegs als gleich anzunehmen sind, während eine morphologische Unter-

---

1) *W. Omelianski*, Handb. d. techn. Mykologie 3, 239. Jena 1904/06.
2) *A. Nathansohn*, Mitteil. a. d. zoolog. Station Neapel 15, 658, 1902.
3) *M. W. Beijerinck*, Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 11, 593, 1904.
4) *R. Lieske*, Ber. d. bot. Ges. 30, 12, 1912.

scheidung kaum möglich ist. Die Bakterien sind alle etwa 1 $\mu$ breite und 2 bis 3 $\mu$ lange, lebhaft bewegliche Kurzstäbchen. Schon durch *Beijerinck* und *Lieske*, ebenso durch *Jacobsen* [1]) war bekannt geworden, daß die Thionsäurebakterien nicht nur Thiosulfat, sondern auch andere Schwefelverbindungen, wie z. B. Schwefelwasserstoff, Calcium- und Kaliumsulfid, unterschwefligsaures Natrium und Natriumtetrathionat, ferner auch elementaren Schwefel oxydieren können.

Erst im Jahre 1914 machte *Gehring* [2]) auf die weite Verbreitung der bis dahin nur im Wasser und Schlamm gefundenen Bakterien aufmerksam und wies mit Nachdruck auf ihre allgemeine Bedeutung für den Umsatz des Schwefels wie überhaupt der organischen Substanz in der Natur hin. Durch ihre Fähigkeit zu denitrifizieren, greifen sie ja auch in den Stickstoffbreislauf ein. Er fand nämlich denitrifizierende Formen auch im Ackerboden, in Buchenwalderde und im Hochmoortorf. Dabei war die Virulenz, d. h. die Fähigkeit zu oxydieren, bei den aus verschiedenen Böden isolierten Bakterien ebenso wie ihre Zahl verschieden. Schon von *Nathansohn* war die extrazelluläre Abscheidung von freiem Schwefel — zum Unterschied von der intrazellulären Einlagerung bei den sogenannten „echten" Schwefelbakterien der Beggiatoagruppe — in Form von Tröpfchen aus der Thiosulfatlösung im Verlaufe der Oxydation beobachtet worden. Sie wurde von ihm rein chemisch erklärt, von *Beijerinck* aber als Teil des Lebensprozesses der Bakterien gedeutet, während sich *Lieske* und *Gehring* über diese Frage nicht näher äußern.

Wesentlich neue Ergebnisse brachten die Untersuchungen von *Trautwein* [3]). In der ursprünglichen Absicht, die Arbeiten von *Lieske* nachzuprüfen, isolierte er ein Bakterium, das sich in einigen Eigentümlichkeiten stark von den bisher bekannten unterscheidet. Weniger als *Gehring* für die Verhältnisse im Boden selbst interessiert, gibt er nichtsdestoweniger ein sehr genaues Bild der Physiologie seines Bakteriums. Der von ihm gezüchtete Organismus unterscheidet sich morphologisch von den bisher untersuchten nicht. Er vermag aber sowohl aerob als auch anaerob, letzteres aber nur bei Darbietung von Nitrat als Stickstoffquelle, zu leben. Ferner findet *Trautwein* im Gegensatz zu den Beobachtungen der früheren Autoren in Reinkultur niemals Ausscheidung von freiem Schwefel. Noch auffallender aber ist die Fähigkeit seines Stammes, in Reinkultur ebensogut wie anorganische auch organische Kohlenstoff- und Stickstoffquellen verwerten zu können, während die bis dahin isolierten Formen stets als streng autotroph bezeichnet wurden.

Als Oxydationsprodukte des bei den Versuchskulturen ausschließlich verwendeten Natriumthiosulfats werden Sulfat, Dithionat und Tetrathionat angegeben, ohne daß sich die Bedingungen für das stärkere Auftreten bald des einen, bald des anderen angeben ließen. Auf Grund quantitativer Analysen werden als Gleichungen für die Oxydation

$$4\,Na_2S_2O_3 + 12\,O = 4\,Na_2S_2O_6 \qquad (1)$$

und

$$3\,Na_2S_2O_3 + 5\,O = Na_2S_4O_6 + 2\,Na_2SO_4 \qquad (2)$$

aufgestellt, wobei der so dargestellte Verlauf aber keineswegs als zwingend

[1]) *H. C. Jacobsen*, Fol. Mikrobiol. **1**, 487, 1912.
[2]) *A. Gehring*, Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., **42**, 402, 1914.
[3]) *K. Trautwein*, ebendaselbst, 2. Abt., **53**, 513, 1921.

angesehen wird. Übrigens war schon vorher von *Beijerinck* und *Nathansohn* versucht worden, den Chemismus der so interessanten Bakteriengruppe in Formeln zu bringen. Auch über das Temperaturoptimum und die günstigste H-Ionenkonzentration finden sich bei *Trautwein* Angaben.

Außer dem so beschriebenen Bakterium aus dem Klärbecken von Elberfeld, mit dem alle Versuche ausgeführt wurden, ließen sich noch aus verschiedenen Wasser-, Schlamm- und Erdproben Thiosulfatbakterien isolieren. Ob diese mit den erstgenannten in allen Eigenschaften vollkommen übereinstimmten, ist nicht ersichtlich.

Wiewohl also über die Thionsäurebakterien bei dem begreiflichen Interesse, das sie in Fachkreisen erweckt hatten, innerhalb der kurzen Zeitspanne seit ihrer Entdeckung bereits mehrere Arbeiten vorlagen, schien es in Anbetracht der oft ziemlich verschiedenen Ergebnisse der Autoren doch aussichtsreich, die chemischen Vorgänge hauptsächlich unter Berücksichtigung des Stoffkreislaufes im Boden nochmals zu prüfen und bei dem mannigfaltigen Chemismus dieser Organismen unserem Bilde von den Thiosulfatbakterien noch einige neue Züge hinzuzufügen.

## II. Eigene Untersuchungen.

Zunächst wurden, anknüpfend an *Trautwein*, zur Gewinnung von Rohkulturen einige Standzylinder von etwa 40 cm Höhe mit der von ihm angegebenen Nährlösung, enthaltend in destilliertem Wasser 0,01 Proz. $MgCl_2$, 0,1 Proz. $KNO_3$, 0,02 Proz. $Na_2HPO_4$, 0,2 Proz. $Na_2S_2O_3$ und 0,1 Proz. $NaHCO_3$, gefüllt, mit Spuren von Grabenschlamm, Auwalderde aus der Lobau bei Wien und Kompost beimpft und im Thermostaten bei etwa 25° C aufgestellt. Nach etwa einer Woche war eine deutliche Trübung der Flüssigkeiten zu bemerken und einige Tage später zeigte sich die Oberfläche von einem gelblichen Häutchen bedeckt, das aus zahlreichen Tropfen Schwefels und Bakterienzooglöen bestand. Die genauere mikroskopische Prüfung ergab außer einigen Amöben und Infusorien größtenteils lebhaft bewegliche Kurzstäbchen, als welche die Thiosulfatbakterien von *Trautwein* und den früheren Autoren beschrieben worden waren. Das Thiosulfat war, wie die Titration mit n/100 Jodlösung erkennen ließ, fast vollständig verschwunden, dafür reichlich Sulfat nachweisbar. Wir hatten es also zweifellos mit Thionsäurebakterien zu tun.

Bei der Aufstellung der Rohkulturen war ein Rest Nährlösung unbenutzt stehen geblieben. Nach einigen Tagen trat auch hier eine Trübung auf, in der Flüssigkeit bewegten sich lebhaft Bakterien, und schließlich wurde ebenfalls freier Schwefel abgeschieden. Da offenbar auch Thionsäurebakterien vorlagen, wurde zuerst an eine direkte Verunreinigung der Lösung mit einer der bereitgestellten Bodenproben gedacht. Doch erhielt man auch in vorher sterilisierten Lösungen, wenn sie einige Tage offen stehen blieben, fast immer dasselbe Resultat, namentlich wenn in dem betreffenden Raume einige Sekunden hindurch der Fußbodenstaub aufgewirbelt wurde. Jedenfalls ist die angeführte Tatsache ein neuer Beweis für die weite Verbreitung der Thiosulfatbakterien nicht nur im Wasser und Boden, sondern mindestens zeitweise auch im atmosphärischen Staube. Sporenbildung konnte übrigens bei den Bakterien ebensowenig beobachtet werden, wie von den anderen Autoren.

Aus den Rohkulturen wurden Strichkulturen auf Agarplatten teils mit der oben erwähnten Nährlösung, teils mit 0,01 Proz. $NH_4Cl$ statt $KNO_3$ als N-Quelle[1]) hergestellt. Die sich sehr bald entwickelnden Kulturen waren auffallend durch die reichliche Ausscheidung gelblichweißer Schwefelmassen zu beiden Seiten der Impfstriche. Neben den Schwefeltröpfchen traten aber, in den meisten Kulturen vorherrschend, zahlreiche ziemlich große, tafelförmig, mitunter auch mehr spießförmig ausgebildete Kristalle auf. In Ausgußkulturen bildeten sie um die einzelnen Bakterienkolonien eine Art Hof. Die mikrochemische Prüfung ergab ihre Löslichkeit in Schwefelkohlenstoff, heißer Kalilauge, Ammoniumsulfid, *Schultze* schem Gemisch ($KClO_3 + HNO_3$), in 10 proz. $Na_2CO_3$ (nach längerer Zeit bei Erwärmen); nicht angegriffen wurden sie von kalter $HNO_3$, Eisessig und $HCl$.

Die Vermutung von Schwefelkristallen fand die volle Bestätigung durch die Anwendung einer von *Emich*[2]) angegebenen eleganten Methode zum Nachweis von Sulfiden für den elementaren Schwefel. Man benetzt auf dem Objektträger die von Agar gereinigten Kristalle mit verdünnter (n/10) Calciumchloridlösung und setzt sie dann einige Minuten Bromdämpfen aus. Man erhält dann an Stelle der ursprünglich vorhandenen Kristalle ganze Büschel von Gipsnadeln. An günstigen Stellen des Präparats bei nicht zu langer Einwirkung des Broms ist das Herauswachsen der Gipsnadeln aus den sich auflösenden Tafeln sehr schön zu beobachten. Schließlich ergab auch die kristallographisch-optische Prüfung, in liebenswürdiger Weise von Herrn Dr. *Köhler* vorgenommen, eine rhombische Modifikation von Schwefel.

Die Ausscheidung von freiem Schwefel in Kristallform in Kulturen von Thiosulfatbakterien scheint bisher noch nicht beobachtet worden zu sein, wenigstens wird immer nur von „Tropfen öligen Schwefels" gesprochen. So wurde auch tatsächlich der Schwefel in den Nährlösungen ausgeschieden. Nur auf dem Boden der Standzylinder fanden sich nach längerer Kulturdauer wenige Kriställchen, wie sie in der Mikrochemie von *Molisch*[3]) bei den „echten" Schwefelbakterien abgebildet sind. Die Entstehung der so charakteristischen Kristalle in den Agarkulturen hängt möglicherweise mit der kolloidalen Beschaffenheit des Mediums zusammen. Die Kristalle wurden wiederholt auch in späteren Kulturen bei etwas längerer Kulturdauer erhalten.

Außer den schon erwähnten Rohkulturen wurden weitere aus verschiedenen Bodenproben gewonnen. Unter anderem ergab unerwarteterweise eine Impfung mit sehr rein aussehendem Donauwellsand sehr kräftige Entwicklung von Bakterien. Dagegen blieben sie in einigen Lösungen, beimpft mit Wiesenerde von verschiedenen Standorten, aus. Der Thiosulfatverbrauch war bei den mit Proben verschiedener Herkunft versehenen Lösungen in der gleichen Zeit keinesfalls gleich. So ergab eine Impfung mit gedüngter Ackererde eine ungleich kräftigere Wirkung als mit längere Zeit ungedüngt gebliebener. Die Behauptung *Gehrings*, daß Zahl und Virulenz der Thionsäurebakterien je nach dem Boden verschieden seien, beruht wohl auf Richtigkeit.

---

[1]) Die erstere Nährlösung möge der Kürze halber mit „Tr. $KNO_3$", die zweite mit „Tr. $NH_4Cl$" bezeichnet werden.

[2]) *Fr. Emich*, Zeitschr. f. anal. Chem. **32**, 163, 1893.

[3]) *H. Molisch*, Mikrochemie der Pflanze, 3. Aufl., S. 68. Jena 1923.

Die folgende kleine Tabelle soll eine Übersicht über die verwendeten Bodenarten und die Ergebnisse der Impfungen bieten.

*Tabelle I.*

| Zur Impfung verwendete Bodenprobe | Effekt | |
|---|---|---|
| | a) Bakterienentwicklung | b) Thiosulfatverbrauch |
| Grabenschlamm | +++ | +++ |
| Auwalderde | +++ | +++ |
| Kompost[1]) | ++ | ++ |
| Donauwellsand | +++ | +++ |
| Donauschlick | +++ | +++ |
| Ungedüngte Ackererde | ++ | ++ |
| Gedüngte Ackererde | +++ | +++ |
| Weingartenlehm | ++ | ++ |
| Wiesenerde | θ | θ |
| Blumentopferde | + | + |

Ein, zwei, drei Kreuze bedeutet: mäßig, gut, sehr stark.

Zwei Stämme, einer aus Grabenschlamm gewonnen, einer durch Infektion aus der Luft erhalten, wurden zur Reinkultur ausgewählt. Reinkulturen in größerer Menge waren *Gehring* nicht gelungen. Er hatte es allerdings mit einer streng anaeroben Form zu tun. *Trautwein* dagegen beschreibt die Reinzucht seines Organismus als ziemlich leicht. Nach seinem Rezepte wurden ohne besondere Vorsichtsmaßregeln wegen anaerober Kultur in Abständen von 5 bis 6 Tagen wiederholte Übertragungen von einer Nährlösung in die andere (es wurde „Tr. $KNO_3$“ und „Tr. $NH_4Cl$“ in gleicher Weise verwendet) in Proberöhrchen vorgenommen.

Ausstriche auf Agarplatten ergaben einzelne, sehr rein aussehende Kolonien, von denen wieder in Nährlösungen abgeimpft wurde. Das Wachstum bei den beiden verwendeten Nährlösungen war gleich gut, so daß sicher so wie bei *Trautwein* keine extrem anaeroben Bakterien vorlagen. Schwefelausscheidung trat übrigens auch bei den reinsten Kulturen sowohl auf Agar als auch in Nährlösungen auf. Während *Trautwein* schon nach zwei bis drei Überimpfungen zur Reinkultur gekommen zu sein angibt, wurden bis zehn Übertragungen von einer Nährlösung in die andere mit zwischengeschalteten Agarkulturen vorgenommen.

Um zu erkennen, ob die von uns kultivierten Stämme so wie der von *Trautwein* gezüchtete ebenfalls heterotroph wären und um gleichzeitig den Grad der Reinheit der Kultur zu prüfen, wurde nunmehr eine Übertragung auf Fleischwassergelatine versucht.

Das Resultat war die Reinkultur von lebhaft beweglichen Kurzstäbchen, die Impfstriche waren schwach gelblichweiß mit gelappten Rändern. Die Gelatine wurde nach einiger Zeit verflüssigt. Dieselben Merkmale fand auch *Trautwein* für seine Reinkulturen. Die Rückimpfung auf Agar mit „Tr. $KNO_3$“ und „Tr. $NH_4Cl$“ ergab aber nur in einem Falle mit Sicherheit Kolonien von dem charakteristischen oben beschriebenen Aussehen. In den anderen Fällen kamen zwar Kurzstäbchen auf,

---

[1]) Im Standglase, mit ziemlich jungem Kompost beimpft, trat starke Gasentwicklung auf, was für die ungestörte Bakterienentwicklung nicht förderlich schien.

aber das Wachstum blieb schwächlich, eine Schwefelabscheidung war nicht zu bemerken. Bei Rückimpfung in anorganische Nährlösungen ließ sich nur ein sehr geringer Thiosulfatverbrauch feststellen. Trotzdem war wegen der sorgfältig durchgeführten Methodik der Reinkultur und der gut stimmenden äußeren Merkmale der Gelatinekulturen die Wahrscheinlichkeit, daß tatsächlich Reinkulturen der Thionsäurebakterien erzielt worden waren, außerordentlich groß. Schon *Beijerinck*, *Lieske* und *Gehring* heben die oft außerordentliche Empfindlichkeit der Thiosulfatbakterien hervor. Wenn die Überimpfungen nicht in verhältnismäßig kurzen Intervallen aufeinander folgten, oft aber auch ohne ersichtlichen Grund wurden die Umsetzungen geringer, die Kulturen starben ab oder wuchsen überhaupt nicht mehr an. So scheint von unseren Stämmen der Übergang von anorganischer Ernährung zur organischen, nicht aber das Umgekehrte gut vertragen zu werden. Damit hängt jedenfalls auch das Ausbleiben der Schwefelabscheidung nach der Rückimpfung auf Thiosulfatagarplatten zusammen.

Die Wahrscheinlichkeit der gelungenen Reinkultur wurde noch durch die im folgenden beschriebene Erscheinung verstärkt. Nach einigen Tagen der Kultur auf Fleischwassergelatine, bevor die Verflüssigung erfolgte, entstand in der Entfernung von etwa ½ cm von der Mittellinie des Impfstriches ein weißgelblicher Hof, der rasch immer dichter wurde. Auf der betreffenden Platte waren drei ungleich lange Impfstriche gezogen worden. Der Hof umschloß von außen alle drei Striche, in seinem Verlaufe ihrer verschiedenen Länge folgend. Er bestand aus größeren und kleineren Körnchen und Schollen. Ihre sorgfältigste mikrochemische Prüfung (auch nach *Emich*) wies auf Schwefel, mindestens aber auf eine leicht oxydierbare Schwefelverbindung hin.

Es ergab sich also die merkwürdige Tatsache, daß aus den im Nährmedium vorhandenen schwefelhaltigen Verbindungen offenbar durch die Bakterien Schwefel oder auch eine niedriger oxydierte Schwefelverbindung abgespalten worden war, eine Eigentümlichkeit, die nach dem bisher Bekannten am ehesten Thiosulfatbakterien zugeschrieben werden mußte. Auch auf Gelatine mit Pepton und Asparagin als N-Quelle und Dextrin und Glycerin als C-Quelle konnten ähnliche, etwas schwächer ausgebildete Höfe beobachtet werden.

Der Schwefel findet sich, abgesehen von seinem Vorkommen als Element, im Erdboden teils in anorganischer, zum größeren Teil aber meist in organischer Bindung. Auf Grund der eben berichteten Tatsachen lag es nahe, zu untersuchen, ob die kultivierten Thiosulfatbakterien auch imstande wären, organische schwefelhaltige Verbindungen anzugreifen und vielleicht die Oxydation des Schwefels bis zum Sulfat durchzuführen. Es wurden daher in Kölbchen je 50 ccm der folgenden Nährlösungen aufgestellt und beimpft mit beiden Stämmen.

| | | |
|---|---|---|
| I. „*Trautwein* $KNO_3$“<br>II. „*Trautwein* $NH_4Cl$“ | und an Stelle von $Na_2S_2O_3$ | 1. 0,2proz. Cystin,<br>2. 0,2proz. Albumin,<br>3. 0,2proz. Nuclein,<br>4. einige Tropfen Senföl |

Namentlich in den Lösungen mit Cystin entwickelten sich reichlich die Bakterien und auf dem Boden der Kölbchen setzte sich ein ziemlich starker Belag ab. Seine Untersuchung ergab Bakterien und tröpfchenförmigen Schwefel in großer Menge. Die qualitative Prüfung auf Sulfat war stark positiv, ein Resultat, das durch die folgende quantitative Analyse bestätigt werden konnte.

In den Lösungen mit Albumin und Nuclein war die Entwicklung der Bakterien und auch die Sulfatbildung weit geringer. Sie scheinen eben aus der verhältnismäßig einfacheren Verbindung des Cystins viel leichter als aus den hochmolekularen Komplexen von Albumin und Nuclein den Schwefel abspalten zu können.

Der Versuch mit Senföl war negativ.

*Jedenfalls ist die Tatsache, daß es Thiosulfatbakterien gibt, die den Schwefel aus organischen Verbindungen oxydieren können, ohne auf den weitgehenden Abbau dieser Verbindungen durch andere Mikroorganismen angewiesen zu sein, für den Verlauf des Schwefelumsatzes im Boden von großer Bedeutung.*

Außer von Thiosulfat war bereits von den früheren Autoren die Oxydierbarkeit einer Reihe von Schwefelverbindungen zwar festgestellt, fast ausschließlich aber nur mit Thiosulfat experimentiert worden. Die Gründe waren methodische, da Thiosulfat einer chemischen Analyse am leichtesten zugänglich ist, während die meisten anderen in Betracht kommenden Verbindungen in Lösungen mehr oder weniger labil und daher einer genauen Kontrolle schwer zugänglich sind.

Trotzdem wurden von uns außer $Na_2S_2O_3$ auch eine Anzahl anderer Substanzen verwendet und getrachtet, über den Ablauf der Oxydation wenigstens durch qualitative und, wo es möglich war, auch durch quantitative Analysen einige Aufschlüsse zu erhalten.

Die folgende Tabelle enthält von einer Versuchsserie (Stamm aus Grabenschlamm) die Ergebnisse der qualitativen Analyse. Zur Prüfung auf Sulfat wurde eine n/10 $BaCl_2$-Lösung, für Nitrit das *Griess*sche, von *Ilosvay*[1]) modifizierte Reagens (essigsaure Lösung von Sulfanilsäure und α-Naphthylamin) und für Ammoniak das *Nessler*sche Reagens verwendet. Der positive oder negative Ausfall der Analysen ist durch + oder — gekennzeichnet, wobei durch die Anzahl der +-Zeichen, so wie in Tabelle I, das Resultat einer ungefähren vergleichenden Schätzung der in je 10 ccm der einzelnen Lösungen gefundenen Mengen angedeutet werden soll. Die Versuchsdauer betrug vier Wochen. Es wurden zwei parallele Serien, eine mit $KNO_3$ und eine mit $NH_4Cl$ als Stickstoffquelle aufgestellt. Die bei Erhitzung leichter zersetzlichen Salze wurden in die sterilisierten Stammlösungen erst nachträglich hineingebracht. Für die meisten Lösungen ist auch die H-Ionenkonzentration zu Beginn des Versuchs nach der kolorimetrischen Methode von *Sörensen*[2]) festgestellt. Die optimale H-Ionenkonzentration für das Wachstum der Thiosulfatbakterien wird von *Trautwein* zwischen $p_H = 9{,}1$ und $p_H = 7{,}88$ angegeben.

Die Analysen auf Nitrit und Ammoniak wurden vorgenommen, um auch über eine eventuelle Denitrifikation einiges zu erfahren. Der Zusammenhang zwischen Sulfatbildung und Salpeterabbau ist ja aus der Tabelle zu ersehen. Überraschend ist nur das Ergebnis bei CaS. Hier zeigt auch die quantitative Prüfung von den anderen Resultaten abweichende Verhältnisse. Das reichliche Ammon in der Lösung mit Cystin stammt zum Teil sicher auch von der abgebauten Aminosäure her. Ebenso ist wohl auch bei Albumin und Nuclein ein Teil von $NH_3$ auf Rechnung der Organika zu setzen.

---

[1]) *Treadwell*, Qualitative Analyse, 9. Aufl., S. 332.
[2]) *S. P. L. Sörensen*, Ergebn. d. Physiol., 12. Jahrg., S. 391, 1912.

*Tabelle II.*

| Je 50 ccm Nährlösung „Tr. KNO₃" mit | $p_H$ | Sulfat | Nitrit | Ammoniak |
|---|---|---|---|---|
| 0,2 proz. $Na_2S_2O_3$ | 8 | +++ | +++ | + |
| 0,1 „ elem. S[1] | 9 | ++ | +++ | — |
| 0,2 „ $Na_2SO_3$ | 4,6 | +++ | ++ | — |
| 0,2 „ $NaHSO_3$ | 3,6 [8,5][2] | +++ | +++ | — |
| 0,2 „ CaS[3] | 8,8 | + | — | + |
| 3 Tropfen Ammoniumsulfid[3] | 8,6 | + | Spur | |
| 0,2 proz. Cystin | 8,8 | +++ | ++ | +++ |
| 0,2 „ Albumin | 8,7 | + | + | ++ |
| 0,2 „ Nuclein | 8,6 | + | + | ++ |

Die parallele Reihe mit $NH_4Cl$ als N-Quelle ergab folgendes Bild:

*Tabelle III.*

| Je 50 ccm Nährlösung „Tr. NH₄Cl" mit | $p_H$ | Sulfat | Nitrit | Ammoniak |
|---|---|---|---|---|
| 0,2 proz. $Na_2S_2O_3$ | 9 | +++ | +++ | — |
| 0,1 „ elem. S[4] | | ++ | +++ | + |
| 0,2 „ $Na_2SO_3$ | | ++ | ++ | + |
| 0,2 „ $NaHSO_3$ | [8,7][5] | +++ | +++ | + |
| 0,2 „ CaS[6] | | ++ | — | — |
| 3 Tropfen Ammoniumsulfid[6] | 9 | ++ | Spur | +++ |
| 0,2 proz. Cystin | | +++ | ++ | +++ |
| 0,2 „ Albumin | | + | + | +++ |
| 0,2 „ Nuclein | | + | + | +++ |

In den Stäben „Sulfat" stimmen die beiden Tabellen fast ganz überein. Besonders starke Sulfatbildung war bei $Na_2S_2O_3$, bei $NaHSO_3$ und bei Cystin, ziemlich starke, namentlich bei Serie I, auch bei $Na_2SO_3$ als Schwefelquellen nachzuweisen, schwächere bei elementarem Schwefel und Ammoniumsulfid, wobei die ziemliche Flüchtigkeit des letzteren zu bedenken ist. Der Abbau des Salpeters bis zum Ammoniak scheint in den anorganischen Lösungen nur bei $Na_2S_2O_3$ und CaS als Schwefelquellen bereits eingetreten zu sein. Der Nachweis von freiem Stickstoff mußte bei der bestehenden Versuchsanordnung unterbleiben. Höchst auffallend ist die Bildung von Nitrit aus dem $NH_4Cl$ in den anorganischen Lösungen. Will man nicht das unter den obigen Umständen ganz unwahrscheinliche Vorhandensein von nitrifizierenden Bakterien neben den Thiosulfatbakterien annehmen, so müßte den letzteren neben der Eigenschaft zu denitrifizieren, unter Umständen auch die Fähigkeit der Nitrifikation zugeschrieben werden. Ein abschließendes Urteil sei einer späteren Untersuchung vorbehalten. Bei den organischen Lösungen ist ja das Vorhandensein von Nitrit leicht erklärlich und der Nachweis von Ammoniak in der Reihe mit $NH_4Cl$ nicht verwunderlich.

[1]) Der Schwefel war nur zum Teil verbraucht worden.

[2]) Die Lösung wurde mit $Na_2CO_3$ auf $p_H = 8,5$ gebracht, da bei $p_H = 3,6$ keine Bakterienentwicklung stattfand.

[3]) Die Kölbchen waren mit Korken verschlossen.

[4]) Der Schwefel nur zum Teil verbraucht.

[5]) Wie oben durch $Na_2CO_3$ auf $p_H = 8,7$ gebracht.

[6]) Mit Korken verschlossene Kölbchen. Die nicht eingetragenen $p_H$ liegen sämtlich zwischen 8 und 9.

Schließlich wurden auch *quantitative Bestimmungen der Sulfatmenge* durchgeführt. Angewendet wurde die von *Trautwein* empfohlene Methode von *Andrew*[1]). Es beruht auf einer Fällung der Schwefelsäure aus der kochenden Lösung als Bariumsulfat durch in Salzsäure gelöstes Bariumbichromat im Überschuß. Der Überschuß wird dann durch Neutralisation der kochenden Lösung mit Ammoniak entfernt, heiß filtriert und mit heißem Wasser nachgewaschen. Nach Abkühlung wird mit rauchender Salzsäure angesäuert, Jodkalium im Überschuß zugesetzt und das durch die Chromsäure in Freiheit gesetzte Jod mit Natriumthiosulfat titriert.

*Trautwein* unterscheidet zwischen präformiertem Sulfat und der nach Bromierung der Lösungen erhaltenen Sulfatmenge, die sich aus dem erstgenannten und dem durch Oxydation der Polythionsäuren gebildeten Sulfat zusammensetzt. Er findet zwischen beiden Mengen das Verhältnis 1 : 6 und stellt danach seine Gleichungen auf. Allerdings findet er die Verhältnisse öfters auch ganz anders, ohne dafür einen Grund angeben zu können. Von uns wurden zahlreiche Kulturlösungen mit Thiosulfat in der erwähnten Weise geprüft, aber niemals das Verhältnis 1 : 6, sondern annähernd gleiche Mengen oder das Drei- bis Vierfache der präformierten Sulfatmenge aus der Oxydation der Polythionsäuren gefunden. Solange der so mannigfaltige Chemismus der Thiosulfatbakterien nicht in allen Teilen vollkommen geklärt ist, scheint es nicht möglich, eine Formel von allgemeinerer Gültigkeit dafür aufzustellen.

Das Ergebnis einiger quantitativen Bestimmungen, mit denselben Lösungen wie die obigen qualitativen Analysen vorgenommen, zeigt die folgende Zusammenstellung.

*Tabelle IV.*

| Lösung nach *Trautwein* | N-Quelle | Je 10 ccm enthalten mg $H_2SO_4$ | |
|---|---|---|---|
| | | ohne Br | mit Br |
| 0,2 proz. $Na_2S_2O_3$ . . . | $KNO_3$ | 13,7 | 13,1[3]) |
| 0,1 „ elem. S . . . . | „ | 6,7 | 7,3 |
| 0,2 „ $Na_2SO_3$ . . . | „ | 9,8 | |
| 0,2 „ $NaHSO_3$ . . . | „ | 14,1 | |
| 0,2 „ CaS . . . . . | „ | 1,5 | 14,1[2]) |
| Ammoniumsulfid . . . | „ | 1,1 | |
| 0,2 proz. Cystin . . . . | „ | 11,3 | |
| 0,2 „ Albumin . . . | „ | 2,4 | |
| 0,2 „ $Na_2S_2O_3$ . . . | $NH_4Cl$ | 13,2 | 13,1[3]) |
| 0,1 „ elem. S . . . . | „ | 6,4 | 8,1 |
| 0,2 „ $Na_2SO_3$ . . . | „ | 8,7 | |
| 0,2 „ $NaHSO_3$ . . . | „ | 13,8 | |
| 0,2 „ CaS . . . . . | „ | 1,8 | 13,4[2]) |
| Ammoniumsulfid . . . | „ | 1,1 | |
| 0,2 proz. Cystin . . . . | „ | 9,5 | |
| 0,2 „ Albumin . . . | „ | 1,8 | |

[1]) *M. Reuter*, Chem.-Ztg. 1898, S. 357.

[2]) Die sterile Vergleichslösung enthielt ohne Br: 0, mit Br: 6,6 mg Sulfat. Die Lösungen wurden vor der Bromierung sämtlich filtriert.

[3]) Die Mengen in Stab 1 und 2 können mit Berücksichtigung eines Fehlers in der Bestimmung als gleich angenommen werden.

Die gefundenen Zahlen erheben keinen Anspruch auf absolute Gültigkeit, sondern sollen mehr als relative Werte und zur Ergänzung der qualitativen Befunde aufgefaßt werden, denn sie schwanken innerhalb gewisser Grenzen bei verschiedenen Versuchsserien, was ja durch die Abhängigkeit der Bakterien von oft unbekannten, wechselnden Faktoren verständlich ist. Im allgemeinen ist ein etwas stärkerer Umsatz des Schwefels in der Reihe mit $KNO_3$ als N-Quelle wahrzunehmen. Bei CaS ist die Menge des durch Oxydation von unverbrauchtem Sulfid entstandenen Sulfats (6,6 mg) von der nach der Bromierung gefundenen Zahl in Abzug zu bringen. Die Mengen in den einzelnen Lösungen stimmen mit der durch qualitative Prüfung gefundenen Resultaten recht gut überein.

Die von uns isolierten Bakterienstämme dürften nach ihren Eigenschaften den von *Trautwein* kultivierten ziemlich nahe stehen. Jedenfalls umfaßt die Gruppe der Thiosulfatbakterien, wie schon *Lieske* betont, „sicher eine große Anzahl von Arten, die einen ähnlichen, vielleicht in den Einzelheiten etwas abweichenden Stoffwechsel besitzen". Da dies mutatis mutandis sicher auch für viele andere Mikroorganismen gilt, ist das Feld für Untersuchungen, die den Stoffumsatz in Wasser und Boden betreffen, noch ein sehr weites.

## Zusammenfassung der Ergebnisse.

Zweck der vorliegenden Untersuchungen war, die vielseitige chemische Tätigkeit der sogenannten Thiosulfatbakterien weiter aufzuklären und ihre Bedeutung für den Kreislauf des Schwefels und auch des Stickstoffs im Boden zu kennzeichnen.

Die gezüchteten Bakterien können aerob sowohl auf anorganischen wie organischen Nährböden leben.

Sie sind imstande, alle im Boden vorkommenden anorganischen Schwefelquellen (elementaren Schwefel, Schwefelwasserstoff und dessen Verbindungen, Sulfite und Hydrosulfite) zu Sulfat bzw. Polythionsäuren zu oxydieren.

Es konnte aber auch gezeigt werden, daß sie den Schwefel aus organischen schwefelhaltigen Verbindungen (Cystin, Albumin, Nuclein, Fleischextrakt) zu verwerten vermögen und auch diesen Schwefel über elementaren Schwefel, der abgeschieden werden kann, zu Sulfat oxydieren.

Es wurde festgestellt, daß neben der Schwefeloxydation bei Darbietung von $KNO_3$ in allen Fällen Nitrit gebildet wird, das im weiteren Verlaufe auch bis zum Ammoniak reduziert werden kann.

Bei Darbietung von $NH_4Cl$ als N-Quelle entstand überraschenderweise ebenfalls reichlich Nitrit, ein Vorgang, der wahrscheinlich auch den Thiosulfatbakterien zugeschrieben werden muß und eine neue Seite ihres Chemismus aufzeigt.

In allen verwendeten anorganischen wie organischen, flüssigen und festen Nährmedien wurde elementarer Schwefel in Form von Tröpfchen

bzw. Körnchen oder Schollen abgeschieden, auf Agar aber fast immer in Form von reichlichen, deutlichen Kristallen einer rhombischen Modifikation.

Das Vorkommen von Keimen konnte nicht nur in Wasser und verschiedenen Bodenarten, sondern auch häufig in der Luft nachgewiesen werden.

Danach fällt der Gruppe der Thiosulfatbakterien im Kreislauf der Stoffe die bedeutende Rolle zu, neben mannigfacher Umwandlung der Stickstoffprodukte den Schwefel aus der verwesenden organischen Materie wiederum zum Sulfat, der einzigen Schwefelquelle der höheren Pflanze, umzuwandeln.

# Eine weitere Methode zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes von Eiweißkörpern und ihre Anwendung auf die Serumalbumine verschiedener Tiere.

Von

**Leonor Michaelis und Takaichi Nakashima.**

(Aus dem biochemischen Institut der Aichi-Medizinischen Universität zu Nagoya, Japan.)

*(Eingegangen am 25. Juli 1923.)*

Wir können den heutigen Stand der Lehre vom isoelektrischen Punkte der Eiweißkörper etwa folgendermaßen zusammenfassen: Die elektrische Ladung der eiweißartigen Kolloide in wässeriger Lösung hängt von der Konzentration und der Art aller in Lösung befindlichen Ionen ab. Unter den physiologisch in Betracht kommenden Ionenarten überwiegt der Einfluß der H˙- und OH′-Ionen über den der anderen Ionenarten so stark, daß es leicht gelingt, zahllose Kombinationen von verschiedenen Elektrolyten in verschiedenster Konzentration herzustellen, in welcher die Ladung des Eiweißes praktisch nur von den H˙-Ionen beeinflußt wird. Infolgedessen ist es berechtigt, auch den isoelektrischen Punkt eines Eiweißkörpers auf eine Weise zu definieren, welche allein den Einfluß der H˙-Ionen auf die Ladung berücksichtigt und den Einfluß anderer Ionenarten vernachlässigt. Diese Definition wird also lauten: der isoelektrische Punkt eines Eiweißkörpers ist diejenige H˙-Ionenkonzentration, bei welcher das Eiweiß in einem elektrischen Potentialgefälle keine Bewegung zeigt, unter der Voraussetzung, daß die neben den H˙- und OH′-Ionen in Lösung befindlichen anderen Ionen von solcher Art und Konzentration sind, daß die Abhängigkeit der Ladung des Eiweißes von einer Variation der Konzentration aller dieser Ionenarten verschwindend klein ist gegenüber dem Einfluß der Variation der H˙-Ionenkonzentration.

Die Erfahrung hat gezeigt, daß es außer der direkten Untersuchung der Bewegung der Eiweißteilchen in einem elektrischen Felde noch mehrere Methoden gibt, welche praktisch mit dieser direkten Methode übereinstimmende Resultate geben. Z. B. hat sich das Fällungsoptimum, das Viskositätsminimum, bei gelatinierenden Eiweißkörpern auch das Erstarrungsoptimum und manche andere Eigenschaften als

identisch mit dem isoelektrischen Punkte erwiesen. Von diesen Methoden zeichnet sich die Bestimmung des Fällungsoptimums durch besondere Einfachheit und Genauigkeit aus. Diese Methode ist aber nicht bei allen Eiweißkörpern anwendbar. Sie gelingt bei Globulinen und bei denaturierten Eiweißkörpern; sie gelingt aber nicht bei einigen genuinen Eiweißkörpern, welche in ihrem isoelektrischen Punkte überhaupt nicht ausgefällt werden, wie Serumalbumin oder Hämoglobin. Diese Eiweißkörper haben an sich, auch ohne die lösungsbefördernde Wirkung der elektrischen Ladung, ein so starkes Hydrationsbestreben, daß sie auch bei Wegnahme der elektrischen Ladung noch genügende Affinität zum Wasser haben, um in stabiler Lösung zu bleiben. *Wo. Pauli*[1]) hat gezeigt, daß man durch passenden Zusatz von Alkohol die Lösungsfähigkeit von Albuminen so weit herabdrücken kann, daß sie in ihrem isoelektrischen Punkte gefällt werden können. Hiermit besitzen wir die Möglichkeit, die Methode des Fällungsoptimums auch für albuminartige Eiweißkörper anzuwenden. Immerhin besitzt die Methode den Nachteil, daß man verhältnismäßig große Mengen Alkohol in die Lösung bringen muß, wodurch möglicherweise der isoelektrische Punkt des Eiweißes etwas verändert werden könnte. Wir fanden nun noch einen anderen Weg, um die Methode des Fällungsoptimums auch auf albuminartige Eiweißkörper anzuwenden. Diese Methode beruht auf folgenden Überlegungen.

Wenn man zwei Kolloidlösungen miteinander mischt, so erhält man häufig Flockungen, und das Optimum dieser Flockung hängt vom $p_H$ sowie von dem Mengenverhältnis der beiden Kolloide ab. Wie *L. Michaelis* und *H. Davidsohn*[2]) beschrieben haben, ist das zur Fällung günstigste $p_H$ von dem Mengenverhältnis der beiden Kolloide abhängig. Das Fällungsoptimum liegt immer bei einem $p_H$, welches zwischen den isoelektrischen Punkten der beiden einzelnen Kolloide liegt. Nehmen wir z. B. das Kolloidpaar Gelatine-Tannin. Gelatine hat einen isoelektrischen Punkt bei $p_H = 4{,}7$, Tannin ist eine reine Säure und hat, wenn man so sagen will, einen isoelektrischen Punkt bei $p_H = -\infty$. Infolgedessen liegt das Fällungsoptimum des Kolloidgemisches immer zwischen diesen beiden genannten Grenzen, und zwar wird es bei einem steigenden Überschuß der einen Komponente immer mehr in die Nähe des isoelektrischen Punktes der überschüssigen Komponente verschoben. Wenn man zu einer gegebenen, sehr kleinen Menge Taninn steigende Mengen Gelatine zusetzt, so nähert sich das $p_H$-Optimum der Fällung immer mehr dem isoelektrischen Punkte der Gelatine.

[1]) *Wo. Pauli*, Kolloidchemie der Eiweißkörper, 1. Hälfte, S. 32, 1920.
[2]) *L. Michaelis* und *H. Davidsohn*, diese Zeitschr. **39**, 496–506, 1912; **54**, 323–329, 1913.

Die Erfahrung hat nun gezeigt, daß in gewissen Fällen die praktisch vollkommene Annäherung des Fällungsoptimums an den isoelektrischen Punkt der einen Komponente leicht erreicht werden kann, so daß wir in solchen Fällen diese Methode geradezu zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes eines Kolloides benutzen können. Wir werden sogleich zeigen, daß bei dem Paar Mastix-Gelatine ein solcher Fall gegeben ist. Wenn man eine Mastixlösung von immer gleicher Herstellungsweise und Konzentration mit steigenden Mengen Gelatine versetzt, so findet man, daß das Fällungsoptimum bei kleiner Gelatinemenge bei $p_H < 4{,}7$ liegt, daß es mit steigender Gelatinemenge schnell sich dem Werte 4,7 nähert und bei weiterer Steigerung der Gelatinemenge zunächst konstant bleibt und dann überhaupt keine Fällung mehr auftritt.

Wenn wir also zusammenfassen, so besteht diese neue Methode zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes darin, daß wir den Grenzwert des $p_H$ für das Flockungsoptimum aufsuchen, welchem ein Gemisch des zu untersuchenden Kolloids mit einem geeigneten zweiten Kolloid zustrebt, wenn die relative Menge des zu untersuchenden Kolloids mehr und mehr gesteigert wird. Neuerdings hat *Jaques Loeb*[1]) beschrieben, daß eine Suspension von Kollodiumteilchen, welche Eiweiß adsorbiert enthalten, ein Fällungsoptimum genau im isoelektrischen Punkte des Eiweißes hat. Diese Beobachtung ist offenbar ein spezieller Fall des soeben beschriebenen Gesetzes. Da die Kollodiumsuspension immer äußerst verdünnt ist, ist es erklärlich, daß schon verhältnismäßig geringe Eiweißmengen genügen, um das Fällungsoptimum des Eiweiß-Kollodiumgemisches praktisch genau dem isoelektrischen Punkte des Eiweißes gleichzumachen.

Zunächst ist es unsere Aufgabe, an einem gut bekannten Falle zu beweisen, daß die Methode ein richtiges Resultat gibt. Zu diesem Zwecke bestimmten wir den wohlbekannten isoelektrischen Punkt der Gelatine[2]) mit dieser Mastixmethode und erhielten folgendes Resultat.

Bemerkungen zu Tabelle I:

1. Mastixsol wurde auf folgende Weise dargestellt. 5 g Mastix wurden in 100 ccm 96proz. Alkohol gelöst und filtriert. 10 ccm hiervon wurden in ein großes Becherglas gegossen und 200 ccm destillierten Wassers möglichst auf einmal und schnell dazu gegeben. Die entstandene milchige Flüssigkeit wurde filtriert, um die gröberen Flocken auszuschalten, und das Filtrat wurde gebraucht.

2. Wir benutzten eine 0,1proz. Gelatinelösung.

3. Gemische von verschiedenen Mengenverhältnissen der beiden Komponenten wurden folgenderweise hergestellt. In die gemischte Lösung von 5 Teilen Mastixsol und 2 Teilen n/10 Na-Acetat brachten wir 10 Teile

[1]) *Jacques Loeb*, Journ. of General Physiol. 5, 480—519, 1922

[2]) *R. Chiari*, diese Zeitschr. 33, 167, 1911; *L. Michaelis* und *W. Grineff*, ebendaselbst 41, 373, 1912.

*Tabelle I.*

Das Fällungsoptimum von Mastix-Gelatinegemischen in verschiedenen Mengenverhältnissen bei variiertem $p_H$.

| Mastix : Gelatinelösung (0,1 proz.) | Zeit Std. | Röhrchen Nr. 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 : 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | + |
| | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | × |
| 5 : 0,12 | 1 | 0 | 0 | 0 | + | × | ×× | ×× | ××× | ××× |
| | 24 | 0 | 0 | 0 | × | × | ×× | ×× | ××× | ××× |
| 5 : 0,25 | 1 | 0 | 0 | 0 | + | × | ×× | ×× | ××× | ×× |
| | 24 | 0 | 0 | 0 | × | × | ×× | ×× | ××× | ×× |
| 5 : 0,5 | 1 | 0 | 0 | 0 | + | × | ×× | ×× | + | 0 |
| | 24 | 0 | 0 | 0 | × | × | ×× | ×× | × | 0 |
| 5 : 1,0 | 1 | 0 | 0 | 0 | × | ×× | × | + | 0 | 0 |
| | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ×× | × | × | 0 | 0 |
| 5 : 1,2 | 1 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | × | 0 | 0 | 0 |
| | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | ×× | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 1,5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | × | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 2,0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ (berechnet) . | | 6,0 | 5,6 | 5,3 | 5,0 | 4,7 | 4,4 | 4,1 | 3,8 | 3,5 |
| $p_H$ (elektrometrisch gemessen) . . | | | | | | 4,65 | | | | |

Zeichen: 0 = keine Trübung.
+ = Trübung.
× = Flockung.

Eiweißlösung und füllten auf 22 Teile mit destilliertem Wasser. Je 2,2 ccm enthalten also 0,2 ccm n/10 Na-Acetat. Wenn man dem Mastixsol *ohne vorherigen Zusatz von Na-Acetat* eine Eiweißlösung (besonders Gelatinelösung) zusetzt, tritt oft schnell die Ausflockung ein und kann man nicht weiter arbeiten.

4. Zusammensetzung der Reihe von variiertem $p_H$.

| Nr. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| n/10 Na-acetat ccm . . . | 1,8 | 1,8 | 1,8 | 1,8 | 1,8 | 1,8 | 1,8 | 1,8 | 1,8 |
| n/10 Essigsäure ,, . . . | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1,0 | 2,0 | 4,0 | — | — | — |
| n/1 ,, ,, . . . | — | — | — | — | — | — | 0,8 | 1,6 | 3,2 |
| Dest. Wasser ,, . . . | 3,88 | 3,75 | 3,5 | 3,0 | 2,0 | 0 | 3,2 | 2,4 | 0,8 |
| Kolloidgemisch ,, . . . | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 |
| $p_H$ (berechnet) . . | 6,0 | 5,6 | 5,3 | 5,0 | 4,7 | 4,4 | 4,1 | 3,8 | 3,5 |

Die Berechnung des $p_H$ erfolgte nach der Näherungsformel:

$$[H^{\cdot}] = 2 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{[\text{Essigsäure}]}{[\text{Na-acetat}]}.$$

5. Die Gaskettemethode wurde in der Anordnung nach *Michaelis*, Prakt. der physik. Chemie, 2. Aufl., mit Birnelektrode und Drehstativ ausgeführt.

Der isoelektrische Punkt der Gelatine nach dieser Methode (4,7) ist also identisch mit dem nach anderen Methoden früher ermittelten Punkt.

Wir wollen in dieser Arbeit diese Methode zunächst dazu benutzen, um den isoelektrischen Punkt des *genuinen Serumalbumins* bei verschiedenen Tierarten zu bestimmen. Das Serum wurde mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt, filtriert und das Filtrat in Dialysierhülsen von *Schleicher-Schüll* bis zur praktischen Freiheit von Sulfaten dialysiert. Die so gewonnene Albuminlösung wurde im genuinen Zustande verwendet. Die Resultate waren folgende.

*Tabelle IIa.*

Das Fällungsoptimum von Mastix-genuinem Serumalbumin vom Kaninchen.

| Mastix : genuin. Serumalbumin | Zeit Std. | Röhrchen Nr. 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 : 0,1 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ×× | ××× | ××× | ××× | × |
| 5 : 0,25 | 24 | 0 | 0 | 0 | ×× | ××× | ××× | ×× | × | 0 |
| 5 : 0,5 | 24 | 0 | 0 | 0 | ×× | ××× | ×× | × | + | 0 |
| 5 : 1,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | × | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 2,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | × | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 4,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | × | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 8,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | × | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ (berechnet) . . . . . . . . | | | | | 5,0 | 4,7 | 4,4 | | | |
| $p_H$ (elektrometrisch gemessen) | | | | | | 4,67 | | | | |

*Tabelle IIb.*

Dasselbe, bei *feinerer* $p_H$-Abstufung.

| Mastix : genuin. Serumalbumin | Zeit Std. | Röhrchen Nr. 4 | 4/5 | 5 | 5/6 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 : 2,0 | 2 | × | ×× | ×× | ×× | × |
| 5 : 4,0 | 2 | + | ×× | ×× | ×× | × |
| 5 : 8,0 | 2 | + | ×× | ×× | ×× | × |
| $p_H$ (berechnet) . . | | 5,0 | 4,85 | 4,7 | 4,55 | 4,4 |
| | | | Optimum (4,85–4,55) | | | |

Bemerkungen zu Tabelle IIa.

1. In dem Röhrchen des Fällungsoptimums tritt zunächst die stärkste Trübung auf, die innerhalb 2 Stunden in die deutlich erkennbare Flockung übergeht. Wenn das Mengenverhältnis der beiden Kolloidkomponenten noch ungenügend ist, verschiebt sich bei der weiteren Steigerung der Menge Serumalbumins das Fällungsoptimum nach der linken Seite. Wenn aber keine Verschiebung mehr auftritt, mit anderen Worten, wenn das Fällungsoptimum an einem bestimmten Röhrchen sich *fixiert*, entspricht diesem Röhrchen der isoelektrische Punkt des genuinen Serumalbumins.

2. Bei dem Mastix-Gelatinegemisch beobachteten wir auch nach 24 Stunden vollkommenes Aufhören der Fällung, wenn die Menge der

Gelatine genügend groß war. Hier, in den Versuchen mit Mastix + Serumalbumingemisch konnten wir aber nach 24 Stunden keine vollkommene Hemmung der Fällung beobachten, wenn auch die Menge des Serumalbumins möglichst gesteigert wurde.

Bemerkungen zu Tabelle IIb.

Zusammensetzung in der Reihe von $p_H$:

| Nr. | 4 | 4/5 | 5 | 5/6 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|
| n/10 Na-acetat ccm . . | 1,8 | 1,8 | 1,8 | 1,8 | 1,8 |
| n/10 Essigsäure „ . . | 1,0 | 1,4 | 2,0 | 2,8 | 4,0 |
| Dest. Wasser „ . . | 3,0 | 2,6 | 2,0 | 1,2 | 0 |
| Kolloidgemisch „ . . . | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 | 2,2 |
| $p_H$ (berechnet) | 5,0 | 4,85 | 4,7 | 4,55 | 4,4 |

Die feinere Abstufung der $p_H$-Reihe ergibt also, daß sich innerhalb $p_H$ 4,85 bis 4,55 Unterschiede in der Flockung nicht mehr bemerkbar machen.

Hieraus ergibt sich als Fällungsoptimum $p_H = 4,67$. Es ist wichtig, bei derartigen Angaben eine Zahlenangabe hinzuzufügen, welche gestattet, ein Urteil über die Sicherheit der Zahl zu gewinnen. In der Regel tut man dies durch Angabe des mittleren Fehlers. Diesen erhält man bekanntlich dadurch, daß man den Versuch mehreremal wiederholt und die gewonnenen einzelnen Resultate in wohlbekannter Weise als Grundlagen für die Berechnung des mittleren Fehlers benutzt. Dieses Verfahren wäre in einem Falle wie dem vorliegenden nicht zweckmäßig. Denn so oft wir auch diesen Versuch wiederholen würden, würden wir stets genau dasselbe Resultat erhalten, der Versuch erscheint als absolut reproduzierbar, und der mittlere Fehler, auf übliche Weise berechnet, wäre nahezu gleich 0, was ein äußerst unglaubwürdiges Resultat wäre. Die Ursache hierfür ist, daß unser Versuch ein *Reihenversuch* mit verhältnismäßig großen *Stufen* ist. Die Stufen viel kleiner zu machen, ist praktisch untunlich, weil die Unterscheidungsmöglichkeit bei noch feineren Stufen bald aufhört (Tab. IIb). Wir wollen deshalb die Genauigkeitsgrenze nicht durch einen mittleren Fehler angeben, sondern durch Hinzufügung derjenigen Zahlenstufe, welche nach Maßgabe des Versuches *mit Bestimmtheit* schon *zu groß*, und derjenigen, welche mit Bestimmtheit schätzungsweise ebensoviel zu klein ist. Die größte Wahrscheinlichkeit hat demnach das arithmetische Mittel dieser beiden Grenzwerte; Zahlen, welche von diesem arithmetischen Mittel abweichen, verlieren stark an Wahrscheinlichkeit, auch wenn sie von den „Überschreitungszahlen" ziemlich entfernt sind. Eine zahlenmäßige Angabe über die Wahrscheinlichkeit dieses Mittelwertes zu machen, ist allerdings nicht möglich.

Im vorliegenden Falle ist also das Resultat mit seinen „*Überschreitungszahlen*“ $p_H = 4.67$ ($< 5{,}0$; $> 4{,}4$).

*Tabelle III.*

Der isoelektrische Punkt des genuinen Serumalbumins vom Menschen.

| Mastix : Serumalbumin | Zeit Std. | Röhrchen Nr. | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 5 : 0,01 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | ××× | ××× | ××× | ××× |
| 5 : 0,05 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ×× | ××× | ××× | ×× | × |
| 5 : 0,1 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | ××× | × | 0 | 0 |
| 5 : 0,25 | 24 | 0 | 0 | 0 | ×× | ××× | × | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 0,5 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | × | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 1,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | × | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 2,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | ×× | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ (gemessen) . . . . . . . . | | | | | | 4,68 | | | | |

*Tabelle IV.*

Der isoelektrische Punkt des genuinen Serumalbumins vom Meerschweinchen.

| Mastix : Serumalbumin | Zeit Std. | Röhrchen Nr. | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 5 : 0,04 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ×× | ××× | ××× | ×× | ×× |
| 5 : 0,1 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | ××× | ×× | ×× | 0 |
| 5 : 0,3 | 24 | 0 | 0 | 0 | ×× | ××× | ××× | × | 0 | 0 |
| 5 : 0,8 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | + | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 2,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ×× | + | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 5,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ××× | × | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ (gemessen) . . . . . . . . . | | | | | | 4,65 | | | | |

*Tabelle V.*

Der isoelektrische Punkt des genuinen Serumalbumins der Schildkröte.

| Mastix : Serumalbumin | Zeit Std. | Röhrchen Nr. | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 5 : 0,25 | 24 | 0 | 0 | 0 | ×× | ×× | ××× | ××× | ××× | ××× |
| 5 : 0,5 | 24 | 0 | 0 | 0 | ×× | ××× | ××× | ××× | ××× | × |
| 5 : 1,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | ×× | ××× | ××× | ××× | + | 0 |
| 5 : 2,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | ×× | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 4,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | + | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 8,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | ++ | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ (gemessen) . . . . . . . . | | | | | | 4,68 | | | | |

*Tabelle VI.*

Der isoelektrische Punkt des genuinen Serumalbumins vom Hund.

| Mastix : Serumalbumin | Zeit Std. | Röhrchen Nr. 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 : 0,06 | 24 | 0 | 0 | × | × | ××× | ××× | ××× | ×× | × |
| 5 : 0,25 | 24 | 0 | 0 | × | ×× | ××× | ××× | ×× | 0 | 0 |
| 5 : 1,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | ××× | × | 0 | 0 |
| 5 : 4,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ××× | ×× | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 8,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | + | ×× | + | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ (gemessen) . . . . . . . . . | | | | | | 4,66 | | | | |

*Tabelle VII.*

Der isoelektrische Punkt des genuinen Serumalbumins vom Rind.

| Mastix : Serumalbumin | Zeit Std. | Röhrchen Nr. 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 : 0,25 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ×× | ××× | ××× | ××× | ×× |
| 5 : 0,5 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ×× | ××× | ×× | 0 | 0 |
| 5 : 1,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | × | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 2,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | × | 0 | 0 | 0 |
| 5 : 4,0 | 24 | 0 | 0 | 0 | × | ××× | × | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ (gemessen) . . . . . . . . . | | | | | | 4,65 | | | | |

*Tabelle VIII.*

Die isoelektrischen Punkte der genuinen Serumalbumine von verschiedenen Tieren.

1. Kaninchen . . . . . . . . . . . 4,67
2. Meerschweinchen . . . . . . . 4,65
3. Schildkröte (Chlemys japonica) . 4,68
4. Hund . . . . . . . . . . . . . 4,66
5. Rind . . . . . . . . . . . . . . 4,65
6. Mensch . . . . . . . . . . . . . 4,68

(1–6: $< 5,0$; $> 4,4$).

Die isoelektrischen Punkte der genuinen Serumalbumine der verschiedensten Tierarten stimmen also innerhalb der Fehlergrenze der Methode untereinander überein; sie liegen alle bei $p_H = 4,7$.

# Über die Kohlensäurebildung bei Spaltung der Eiweißstoffe im Autoklaven.

Von

**W. S. Ssadikow.**

(Aus dem Laboratorium für organische Chemie der Universität zu Moskau.)

*(Eingegangen am 12. Oktober 1923.)*

Beim Erwärmen der Eiweißstoffe mit schwachen Mineralsäuren bei 180° gelangt man schon im Laufe von 2 bis 3 Stunden zu den abiureten Produkten. Es war von Interesse festzustellen, ob sich bei einer solchen Einwirkung Kohlensäure bildet und, wenn das der Fall ist, nach ihrer Menge den Grad von sekundären Zersetzungen des Eiweißkörpers zu ermitteln.

Die Spaltung wurde in einem *Pfungst*schen Autoklaven ausgeführt, die bei der Hydrolyse entstandenen Gase wurden aufgefangen und analysiert. Die Versuche sind mit Gelatine angestellt. Diese wurde in schwacher Salzsäure gelöst, die Lösung in eine Glasröhre gefüllt und im Autoklaven eingeschlossen. Das Volumen des Luftraumes im Autoklaven wurde jedesmal in der Weise gemessen, daß man den Autoklaven evakuierte und nachher die Luft aus der mit Wasser halb gefüllten *Bunte*schen Bürette einsaugen ließ. Das Volumen der Gase nach vollendeter Hydrolyse wurde ebenfalls mit Hilfe der *Bunte*schen Bürette ermittelt, indem man den Autoklaven nach dem Erkalten mit der Büıette verband und durch das ausströmende Gas ein gewisses Volumen des Wassers verdrängen ließ. Falls die Bürette vorher zum Teil mit Kohlensäure gefüllt wäre, könnte man nicht nur Über- oder Minderdruck im Autoklaven volumetrisch bestimmen, sondern auch die Gasprobe zur Analyse entnehmen. Ist z. B. ein beträchtlicher Minderdruck im Autoklaven vorhanden, so entnimmt man die Gasprobe auch in der Weise, daß man den Autoklaven mit einem stark evakuierten Gefäß verbindet und die Gasprobe darin auffängt. Gut geeignet ist hierfür ein Apparat zur Stickstoffbestimmung nach *van Slyke,* wie er von *Klein*[1]) vorgeschlagen wurde.

Wir gehen nun zur Darstellung unserer Versuche über.

1. 25 g Gelatine wurden in wässeriger Salzsäure gelöst. Der Luftraum im Autoklaven betrug 240 ccm. Die Konzentration der Säure, Dauer des Erhitzens, Druck in Atmosphären usw. sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

---

[1]) Amer. Journ. of Physiol. 1913.

| Versuchsnummer | Säurekonzentration Proz. | Druck Atm. | Dauer des Erhitzens Std. | Überdruck ccm | Kohlensäuregehalt der Gasprobe Proz. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 10 | 6 | 120 | 54 |
| 2 | 1,5 | 15 | 10 | 120 | 62,5 |
| 3 | 2 | 5 | 36 | 44,4 | 36,3 |
| 4 | 1,4 | 5 | 7 | 41,4 | 45,0 |
|  | 1,4 | 5 | 6 | 77,8 |  |

Bei gleicher Säurekonzentration von 2 Proz. und verschiedenen Drucken sowie verschieden langer Dauer des Erhitzens enthält der Gasraum im Autoklaven ungleiche Kohlensäuremengen. Bei sechsstündigem Erhitzen und bei 10 Atm. ist der $CO_2$-Gehalt 54 Proz.; bei 36stündigem Erhitzen und 5 Atm. Druck nur 36 Proz. Bei 15 Atm. und 10 Stunden beträgt der Kohlensäuregehalt des Gasraumes sogar 62,5 Proz. Je höher der Druck ist, desto mehr Kohlensäure wird entwickelt; die Dauer des Erhitzens scheint von untergeordneter Bedeutung zu sein. In dem Versuch Nr. 4 wurde das Erhitzen nach 7 Stunden unterbrochen, der Autoklav gelüftet und nochmals 6 Stunden erwärmt. Der $CO_2$-Gehalt erwies sich höher als bei ununterbrochenem 36stündigen Erhitzen, was darauf deuten könnte, daß die Gegenwart von Sauerstoff fördernd auf die $CO_2$-Bildung wirkt. Diese Schlußfolgerung wird nun dadurch bekräftigt, daß fast sämtlicher Sauerstoff des Luftraumes bei der Hydrolyse verschwindet bzw. durch organische Substanz gebunden wird.

Berechnet man in Gewichtsprozenten die größte Gesamtmenge der aus 25 g Gelatine entwickelten Kohlensäure bei 10stündigem Erhitzen und 15 Atm., so beträgt sie etwa 1,8 Proz. des Gelatinegewichts. Die Zersetzung bei Hydrolyse der Eiweißkörper im Autoklaven kann also beinahe vernachlässigt werden, wir haben es bei Eiweißkatalysen hauptsächlich mit Spaltungsprozessen zu tun.

2. 40 g Gelatine wurden in 200 ccm 1,2proz. HCl gelöst und bei 10 Atm. 6 Stunden erhitzt, nachdem der Autoklav bis 12 mm Druck evakuiert war. Das Gesamtvolumen des entstandenen Gases betrug 393 ccm, die darin enthaltene Kohlensäuremenge 375 ccm. Es blieben also 18 ccm eines indifferenten Gases, wahrscheinlich Stickstoffs, übrig, Sauerstoff und Wasserstoff waren nicht vorhanden. Das indifferente Gas konnte nicht von den Resten der Luft herstammen, da beim Evakuieren des Autoklaven bis 12 mm, der Berechnung nach, im Gasraume nicht mehr als 2 ccm Stickstoff übrig bleiben würden.

Der indifferente Gasrest könnte entweder von außen infolge ungenügender Dichtung des Autoklaven eindringen oder vom Metall abgegeben werden, oder vielleicht durch Zersetzung der Gelatine entstehen.

Ein Kontrollversuch mit Wasser im bis 12 mm evakuierten Autoklaven zeigte, daß bei unseren Versuchsbedingungen der Autoklav dicht gesperrt war. Wenn man den Autoklaven bis 12 mm evakuiert und darauf mit Luft füllt, so braucht man dazu 138 ccm. Der Autoklav wird nun wieder evakuiert und 6 Stunden bei 180° (etwa 15 Atm.) gehalten, dann 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen und das Luftvolumen, welches zum Nachfüllen des Vakuums nötig ist, auf die oben beschriebene Weise gemessen. Es betrug 140 ccm.

Es ist wohl bekannt, daß Metallgegenstände beim Erhitzen und Evakuieren ununterbrochen Gase abgeben, welche von den Metallen absorbiert werden. Es ist wahrscheinlich, daß dasselbe Phänomen auch hier auftritt, aber es ist nicht ganz ausgeschlossen, daß ein Teil des Stickstoffs vom Eiweißkörper stammt. Was jedoch die Kohlensäure anbetrifft, so ist hervorzuheben, daß sie auch ohne Gegenwart von Luftsauerstoff, nämlich im Vakuum, aus Gelatine abgespalten wird, wenn auch in ziemlich geringen Mengen. Es ist wohl an eine Decarboxylierung unter den Bedingungen der Hydrolyse im Autoklaven zu denken.

3. 40 g Gelatine in 200 ccm 6,7 proz. HCl gelöst, werden nach dem Evakuieren 3 Stunden bei 170° erhitzt. Man erhält nun einen Überdruck nach dem Erkalten, welcher 226 ccm ausmacht. Das Gesamtvolumen des Gases war 150 ccm des Gasraumes plus 226 ccm des Überdruckes, also 376 ccm. Die Gasanalyse zeigte die Menge der Kohlensäure gleich 301,7 ccm. Sauerstoff fehlte. Der Rest bestand aus Wasserstoff und indifferentem Gase (Stickstoff).

Bei Anwendung von stärkerer Salzsäure (6,7 proz.) beträgt die Kohlensäure 80,3 Proz. des Gasgemisches, bei 1,2 proz. HCl, wie wir aus dem Versuche 2 ersehen, dagegen 95,4 Proz. des Gesamtgases. Bei höherer Säurekonzentration wirken wahrscheinlich die Säuredämpfe auf die Metallflächen des Autoklaven und beeinflussen die Entwicklung von Wasserstoff und Stickstoff.

4. 10 g Gelatine in 100 ccm 2 proz. HCl gelöst, wurden im Autoklaven eingeschlossen, dieser auf 12 mm evakuiert, dann mit $CO_2$ gefüllt, wieder evakuiert und nochmals mit $CO_2$ gefüllt. Diese Durchspülung des Gasraumes wurde noch zweimal wiederholt, so daß anzunehmen war, daß der ganze Luftstickstoff entfernt wurde. Die Gelatine wurde in einer Kohlensäureatmosphäre 3 Stunden bei 180° erhitzt. Nach dem Erkalten erhält man einen Überdruck gleich 195 ccm. Da im Gasraume des Autoklaven 212 ccm $CO_2$ vorhanden waren, so haben wir das Gesamtvolumen des Gases gleich 407 ccm. Die Gasanalyse zeigte, daß im Gasgemische 375,7 ccm $CO_2$ vorhanden waren, 163,7 ccm der $CO_2$ wurden also neu gebildet. Man beobachtet keinen inneren Zusammenhang zwischen der Menge der zu hydrolysierenden Substanz und der Menge der gebildeten $CO_2$, wie aus dem Vergleiche der Versuche 3

und 4 zu erkennen ist. Auch läßt sich nichts Sicheres aussagen über den fördernden bzw. hemmenden Einfluß der Kohlensäureatmosphäre auf die Abspaltung von Kohlensäure.

Trotz der fast völligen Entfernung des Stickstoffs aus dem Gasraume wurde nach dem Erhitzen wieder neben Wasserstoff auch Stickstoff gefunden, der gegen 20 ccm ausmacht und entweder vom Metall des Autoklaven oder von Gelatine abgegeben wird. Die angewandte Apparatur ließ diese Frage nicht gut entscheiden.

5. Es wurde noch ein Versuch mit Sauerstoffüllung angestellt. 20 g Gelatine in 100 ccm 2 proz. HCl gelöst, im Autoklaven eingeschlossen, derselbe evakuiert und mit Sauerstoff unter Sauerstoffdruck gefüllt. Da der angewandte technische Sauerstoff stickstoffhaltig war, wurde keine Durchspülung des Gasraumes vorgenommen. Es kam darauf an, die Gelatinelösung unter höherem Drucke mit Sauerstoff zu sättigen. Nachdem die Lösung in der Sauerstoffatmosphäre 3 Stunden bei 180° erhitzt worden und abgekühlt war, wurde ein Minderdruck gleich 15 ccm beobachtet, welcher mit demselben Sauerstoff nachgefüllt war. Im ganzen wurden 222 ccm technischen Sauerstoffs genommen, in welchem sich 50 ccm indifferente Gase befanden, an reinem Sauerstoff waren also 172 ccm vorhanden.

*Das nach dem Erhitzen entstandene Gasgemisch enthielt keinen Sauerstoff*, er wurde vollständig entweder vom Hydrolysat oder von den Metallwänden absorbiert. Im Gasgemisch befanden sich 136,3 ccm $CO_2$ und 81 ccm von indifferenten Gasen, dabei von neuentstandenen 31 ccm.

Der Autoklav wurde nochmals auf die oben beschriebene Weise mit technischem Sauerstoff gefüllt und wieder 3 Stunden auf 180° erhitzt. Nach dem Erkalten hat man einen Überdruck von 20 ccm. Wieder ist sämtlicher Sauerstoff verschwunden. Von der Gesamtmenge des entstandenen Gases (243 ccm) beträgt die $CO_2$-Menge 148,7 ccm. Zieht man 54 ccm des mit Sauerstoff eingeführten indifferenten Restgases ab, so bleiben 40 ccm übrig, welche im Laufe der Hydrolyse entstanden sind.

Aus den oben angeführten Versuchen kann man ersehen, daß bei den katalytischen Spaltungen der Eiweißstoffe nur eine geringe Zersetzung stattfindet, da die in Gewichtsprozenten umgerechnete Kohlensäuremenge in bezug auf das Gewicht des zu hydrolysierenden Eiweißstoffes nicht einmal 2 Proz. ausmachte. Besonders hervorzuheben ist auch das schnelle Verschwinden des Sauerstoffs im Autoklavengasraume, welcher Umstand in dem Sinne wichtig erscheint, daß bei Hydrolyse im Autoklaven nur sehr beschränkte sekundäre Oxydationsvorgänge möglich sind, da die Hydrolyse sich hauptsächlich in einer Kohlensäureatmosphäre entwickelt.

# Über Autoklaven-Spaltungen in einer Stickstoffatmosphäre.

Von

**W. S. Ssadikow.**

(Aus dem Laboratorium für organische Chemie der Universität zu Moskau.)

*(Eingegangen am 12. Oktober 1923.)*

In meiner früheren Mitteilung „Über die Kohlensäurebildung bei Spaltung der Eiweißstoffe im Autoklaven" wurde erwiesen, daß sich bei Behandlung der Gelatine mit schwacher Säure im Autoklaven (einige Stunden bei 180°) $CO_2$ entwickelt. Durch Versuche in einer Kohlensäureatmosphäre und im Vakuum wurde auch ein Auftreten von indifferenten Gasen (Stickstoff) beobachtet, deren Herkunft noch nicht klar ist; ferner stellte sich heraus, daß Sauerstoff begierig und quantitativ gebunden wird und aus dem Gasraume verschwindet.

Bei weiterer Verfolgung meiner Versuche, als ich sie in einer Luftatmosphäre (tatsächlich also in Stickstoff + Kohlensäure-Atmosphäre) vorgenommen habe, wurde eine auffallende Erscheinung der „Stickstoffretention" beobachtet.

Die Versuchsanordnung war dieselbe, wie sie in meiner ersten Mitteilung beschrieben ist.

### Versuche mit Gelatine.

1. 40 g Gelatine wurden in 200 ccm 1,2proz. HCl gelöst und 6 Stunden lang bei 10 Atm. im Autoklaven erhitzt.

Der Luftraum des Apparates war 153 ccm.

Nach dem Erkalten beobachtete man einen Überdruck von 13,4 ccm.

Die Gesamtmenge des Gases nach dem Erkalten war also 166,4 ccm; sie enthielt 132,8 ccm $CO_2$ und 53,6 ccm Stickstoff.

In 153 ccm Luft waren aber 124,5 ccm Stickstoff zugegen; 70,8 ccm des Luftstickstoffs sind im Laufe der Hydrolyse aus dem Gasraume verschwunden.

2. 50 g Gelatine in 200 ccm Wasser gelöst; 16 Stunden bei 15 Atm. erhitzt.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . | 147 ccm | Gesamtes Gasvolumen |
| Überdruck | 365 „ | 512 ccm. |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 485 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 29 ccm | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 114,4 „ | 27 „ |

3. 50 g Gelatine in 200 ccm Wasser gelöst; 12 Stunden bei 15 Atm. erhitzt.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 148 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 129 „ | 277 ccm |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 259 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 30 ccm | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 118 „ | 21 „ |

4. 50 g der beim dritten Versuch vorbehandelten Gelatine (Wasser, 12 Stunden, 15 Atm.) wurden nochmals 12 Stunden bei 15 Atm. erhitzt. Bei diesem Versuche wurde der Autoklav nur gelüftet und nicht auseinander genommen.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 148 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 176 „ | 324 ccm |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 197,5 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 30 ccm | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 118 „ | 128 „ |

Die oben erwähnten Versuche haben nun gezeigt, daß beim Erhitzen der Gelatinelösung in einer Stickstoffatmosphäre bei 160 bis 180° eine bedeutende Stickstoffmenge auf irgend eine Weise aus dem Gasgemische verschwindet. Wir haben nämlich im:

Versuch 1 von 124,5 ccm eingeführten Luftstickstoffs nur 53,6 ccm wiedergefunden; 70,8 ccm werden vermißt, was 56,86 Proz. des gesamten Stickstoffs ausmacht. Berücksichtigt man aber die in einer früheren Mitteilung konstatierte Ausscheidung indifferenten Restgases (Plus-Stickstoff), so wird der Prozentsatz des vermißten Stickstoffs (Minus-Stickstoff) noch größer.

In den Versuchen 2 und 3, wo die Spaltung der Gelatine im Autoklaven mit Wasser ausgeführt wurde und die Dauer des Erhitzens 16 und 12 Stunden betrug, erhielt man an „Minus-Stickstoff" 87,4 ccm und 97 ccm, was etwa 0,1093 bzw. 0,1213 g Stickstoff entspricht.

Es ist bemerkenswert, daß wir bei ganz gleicher Anordnung des Versuchs 4, bei welchem die beim Versuch 3 gebrauchte, schon hydrolysierte Gelatine genommen wurde, keinen Stickstoffverlust konstatieren konnten. Dieser Versuch 4 ist in dem Sinne beachtenswert, daß man hier einen Zusammenhang zwischen dem im Autoklaven behandelten organischen Substrat und der Stickstoffretention erkennt.

Dieser Zusammenhang veranlaßte mich, bei gleichen Bedingungen auch andere Substanzen im Autoklaven zu prüfen.

### Versuch mit Glucose.

3 g Glucose in einer 1proz. HCl gelöst. 10 Stunden bei 180° erhitzt.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 207 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 309 „ | 516 ccm |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 322 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 41 ccm | 1,4 „ |
| $CO$ . . . . . . . . . . | 0 | 3,5 „ |
| $H_2$ . . . . . . . . . . | 0 | 22,5 „ |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 165,6 „ | 168,5 „ |

Die Zersetzung der Glucose im Autoklaven in einer Stickstoffatmosphäre führt zu keinem Stickstoffverbrauch.

**Versuche mit Aminosäuren.**

1. 10 g Glycin in 200 ccm 1 proz. HCl gelöst; 6 Stunden bei 180° im Autoklaven behandelt.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 172 ccm | Gesamtvolumen |
| Kein Überdruck | | 172 ccm |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 16,2 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 34,4 ccm | 1,9 „ |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 137,6 „ | 124 „ |

Minus-Stickstoff: 13,6 ccm.

2. 5 g Asparaginsäure in 100 ccm 1 proz. HCl gelöst; 12 Stunden bei 180° erhitzt.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 228 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 3 „ | 231 ccm. |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 161 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 46 ccm | 1,3 „ |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 185 „ | 65,5 „ |

Minus-Stickstoff: 119,5 ccm.

3. 10 g Asparaginsäure in 250 ccm 1 proz. HCl gelöst; 3 Stunden bei 180° erhitzt.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 107 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 201 „ | 308 ccm. |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 303 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 22 ccm | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 87 „ | 5 „ |

Minus-Stickstoff: 82 ccm.

4. 20 g Asparaginsäure und 150 ccm Wasser wurden bei 180° 9 Stunden erhitzt.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 176 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 195 „ | 371 ccm. |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 339 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 35 ccm | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 141 „ | 35 „ |

Minus-Stickstoff: 106 ccm.

Dieselbe Lösung wurde, ohne den Autoklaven zwecks Kontrolle zu öffnen, nach dem Lüften wieder bei 180° erhitzt.

Ich führe hier nur Stickstoffvolumina vor und nach Erhitzen in einer Reihe aufeinanderfolgender Eingriffe auf die ursprüngliche Asparaginsäure an.

| Erhitzung | Dauer Std. | $N_2$-Volumen vor Erhitzung ccm | $N_2$-Volumen nach Erhitzung ccm | Minus-Stickstoff ccm |
|---|---|---|---|---|
| 2. | 7 | 165,6 | 164 | 1,6 |
| 3. | 12 | 165,6 | 147 | 18,6 |
| 4. | 10 | 167 | 141 | 26 |
| 5. | 12 | 167 | 168 | 0 |
| 6. | 21 | 167 | 164 | 3 |
| 7. | 18 | 167 | 179 | 0 |
| 8. | 18 | 165 | 164 | 1 |
| 9. | 18 | 165 | 159 | 6 |

Betrachten wir die gesammelten Tatsachen in bezug auf die Aminosäuren, so stellt sich deutlich heraus: 1. daß Glycin nur in geringem Maße die Veranlassung zur Stickstoffretention gibt; 2. daß die Asparaginsäure dagegen eine umfangreiche Abnahme des Stickstoffs hervorruft, bei Behandlung sowohl mit 1proz. HCl als auch mit Wasser; 3. daß das mehrmalige aufeinanderfolgende Erhitzen von Asparaginsäure entweder einen weit kleineren oder sogar gar keinen Stickstoffverlust mehr bedingt.

Faßt man die Stickstoffretention bei Zersetzungen von organischen Substanzen (Gelatine, Asparaginsäure) im Autoklaven als irgend eine Art Anlagerung von elementarem Stickstoff an irgendwelche naszente Atomgruppierungen auf, welche sich bei den Zersetzungen bilden, so kommen zuerst die ungesättigten Bindungen in Betracht.

Da wir gefunden haben, daß sich bei Spaltung der Gelatine im Autoklaven Fumarsäure bildet, ebenso wie bei Zersetzung der Asparaginsäure im Autoklaven, so war es notwendig, das Verhalten der Fumarsäure im Autoklaven in einer Stickstoffatmosphäre zu prüfen.

**Versuche mit Fumarsäure.**

10 g Fumarsäure und 100 ccm Wasser wurden bei 180° 18 Stunden erhitzt.

Luftraum . . . . . . . . . 257 ccm
Minderdruck . . . . . . . 169 „

Minderdruck wurde mit 169 ccm Luft nachgefüllt. Das Gesamtvolumen des untersuchten Gases war also 257 ccm.

| Zusammensetzung des Gasgemisches | Eingeführt in den Autoklaven: vor dem Erhitzen ccm | nach dem Erhitzen ccm | im ganzen ccm | Gefunden im Gasgemisch nach Erhitzung ccm |
|---|---|---|---|---|
| $CO_2$ . . | 0 | 0 | 0 | 55,4 |
| $O_2$ . . . | 52 | 50 | 102 | 34 |
| N . . . | 205,6 | 119 | 324,6 | 168 |

Von 324,6 ccm des in den Autoklaven eingeführten Stickstoffs wurden 156,6 ccm vermißt, d. h. 76 Proz. des vor dem Erhitzen eingeführten Stickstoffs.

Fumarsäure erwies sich als ein sehr wirksames Mittel zur Erreichung von Stickstoffretention. Ob sie als solche wirksam ist, oder ob ihre Zersetzungsprodukte wirksam sind, könnte man in der Weise entscheiden, daß man Fumarsäure nur verhältnismäßig kurze Zeit im Autoklaven behandelt.

2. 10 g Fumarsäure und 100 ccm Wasser wurden 3 Stunden bei 180° erhitzt.

| | |
|---|---|
| Luftraum . . . . . . . . . | 262 ccm |
| Minderdruck . . . . . . . | 36 „ |

Minderdruck wurde mit $CO_2$ nachgefüllt. Gesamtvolumen ist also 262 ccm.

| | Eingeführt | Gefunden |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 36 ccm | 52,5 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 53 „ | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 209,6 „ | 210 „ |

Der Versuch lehrt, daß bei kurzdauerndem Erhitzen Fumarsäure gegen Stickstoff indifferent ist; daraus muß gefolgert werden, daß nur die Zersetzungsprodukte der Fumarsäure wirksam sein können.

3. Dieselbe Lösung wurde, ohne den Autoklaven zu öffnen, nach dem Lüften noch 20 Stunden bei 180° erhitzt.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 262 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 24 „ | 286 ccm. |

| | Vor Erhitzen | Nach Erhitzen |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 109,4 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 57 ccm | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 209 „ | 177 „ |

Minus-Stickstoff: 32 ccm.

Da die Zersetzungsprodukte der Fumarsäure im Autoklaven die Ursache der beobachteten Stickstoffretention zu sein scheinen, habe ich es unternommen, das Verhalten der Fumarsäure bei wiederholter langdauernder Erhitzung zu prüfen. Da mir die Sache sehr wichtig erscheint, so führe ich sämtliche Zahlen, welche ich bei Gasanalysen erhalten habe, an. Beim ersten Erhitzen (3 Stunden) ist der Minus-Stickstoff gleich 0; beim zweiten (20 Stunden) gleich 32 ccm.

*Dritte Erhitzung.* 18 Stunden.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 262 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 133 „ | 395 ccm. |

| | Genommen | Gefunden |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 250 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 53 ccm | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 209 „ | 145 „ |

Minus-Stickstoff: 64 ccm.

*Vierte Erhitzung.* 20 Stunden.

Luftraum . . 262 ccm
Minderdruck 200 „ , wird mit $CO_2$ nachgefüllt.
Gesamtvolumen: 262 ccm.

| | Genommen | Gefunden |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 200 ccm | 221,6 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 53 „ | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 209 „ | 41 „ |

Minus-Stickstoff: 168 ccm.

*Fünfte Erhitzung.* 20 Stunden.

Luftraum . . 262 ccm

Minderdruck 233 „ , wird mit $CO_2$ nachgefüllt.

Gesamtvolumen: 262 ccm.

| | Genommen | Gefunden |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 233 ccm | 237 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 53 „ | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 209 „ | 25 „ |

Minus-Stickstoff: 184 ccm.

Die letzten zwei Versuche sind in dem Sinne bemerkenswert, daß man einen starken Minderdruck und eine geringe $CO_2$-Entwicklung beobachtet (nur 21,6 ccm bzw. 4 ccm $CO_2$). Das Vakuum bis 233 ccm wird nur teilweise durch Sauerstoffabsorption bedingt; 180 ccm des Vakuums sind also durch Stickstoffabsorption zu erklären. Der Minus-Stickstoff erreicht hier die größten je beobachteten Werte, nämlich 165 ccm und 185 ccm.

Weitere Versuche werde ich tabellarisch zusammenstellen:

| Erhitzung Nr. | Dauer der Erhitzung Std. | Druckverhältnisse ccm | Entwickelte $CO_2$-Menge ccm | Retenierter Stickstoff ccm |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3 | — 36 | 52,5 | 0 |
| 2 | 20 | + 24 | 109,4 | 32 |
| 3 | 18 | + 133 | 250 | 64 |
| 4 | 20 | — 200 | 21 | 168 |
| 5 | 20 | — 233 | 4 | 184 |
| 6 | 20 | + 135 | 202 | 4 |
| 7 | 20 | — 252 | 30 | 218,6 |
| 8 | 20 | — 212 | 48 | 199,2 |
| 9 | 18 | — 110 | 75 | 119,6 |
| 10 | 20 | — 68 | 87 | 90 |

Der Verlauf der Zersetzung bei der Fumarsäure ist etwas anders als bei der Asparaginsäure. Im ersten Falle haben wir ununterbrochene und stets wachsende Retentionen des Stickstoffs vor uns, während dies bei der Asparaginsäure nur im geringen Umfange und nur am Anfang der Zersetzung geschieht. Im Falle der Fumarsäure ist eine bemerkenswerte Schwankung des Enddruckes vorhanden, welche durch die Menge der entstehenden Kohlensäure bedingt ist. Den kleinsten Werten von $CO_2$-Abspaltung und dem Vorhandensein des bedeutenden Minderdruckes entsprechen die mehr ausgeprägten Stickstoffretentionen. Man hat den Eindruck, daß der Prozeß in zwei Phasen verläuft: zuerst wird $CO_2$ abgespalten und es entsteht irgend eine Atomgruppierung, welche nachher bei weiterer Zersetzung, vielleicht in statu nascendi, Stickstoff anlagert.

Da Fumarsäure eine recht einfache Verbindung ist, so ist eine Möglichkeit gegeben, diese Prozesse in ganz konkreter Weise aufzufassen. Es müssen drei Momente berücksichtigt werden: 1. eine Sauerstoffaufnahme, welche wahrscheinlich an Doppelbindung geknüpft ist;

2. eine $CO_2$-Abspaltung, welche die Carboxylgruppen angreift; 3. eine Entstehung von einer ungesättigten, im *Nef*schen Sinne naszenten Atomgruppierung, welche geneigt sein kann, Stickstoff anzulagern. Wir können uns nun folgendermaßen den Verlauf dieser Reaktionen vorstellen:

$$\begin{array}{l} HC-COOH + H_2O \\ \quad \| \\ HC-COOH + H_2O \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OH \\ | \\ H-C-COOH + H_2 \\ | \\ H-C-COOH \\ | \\ OH \end{array}$$

$$\rightarrow \begin{array}{c} OH \\ | \\ H-C-H \\ | \\ H-C-H \\ | \\ OH \end{array} + 2\,CO_2 \rightarrow \begin{array}{l} H_2O \quad HC\equiv \\ H_2O \quad HC\equiv \end{array}$$

Die letzte intermediäre Verbindung (Äthylenglykol) spaltet sich unter Wasserbildung und Entstehung von (naszierenden) $\overset{}{\underset{|||}{CH}}$-Gruppen, welche sich einerseits miteinander zu Acetylen $HC\equiv CH$ verknüpfen[1]), andererseits mit Stickstoff $HC\equiv N$ Cyanwasserstoff bilden. Durch den sich bei Anlagerung von OH-Gruppen an Doppelbindung der Fumarsäure bildenden Wasserstoff wird Sauerstoff gebunden. Diese Anschauung findet durch Versuche von *Garner* und *Matsuno* eine vollständige Bestätigung.

Beim Explodieren einer Mischung von Acetylen und Stickstoff haben *Garner* und *Matsuno*[2]) die Bildung von HCN (bis 3,24 Proz.) konstatiert, was nur durch die Gegenwart von naszierenden $HC\equiv$-Gruppen zu erklären ist. Daß bei Zersetzung von Fumarsäure sich reichlich Acetylen bilden könnte, ist recht einleuchtend. Ebensolche naszenten ungesättigten Gruppen entstehen wahrscheinlich bei Zersetzung von Asparaginsäure, Gelatine, Eiweißstoffen usw. im Autoklaven, aber nur in sehr bescheidenem Maße. Durch diese Vorstellung würde die Stickstoffretention im Autoklaven als Synthese von Cyanwasserstoff erklärbar.

Als ich nach dem 180stündigem Erhitzen von 10 g der Fumarsäure den Autoklaven öffnete, fand ich in demselben etwa 35 ccm Flüssigkeit, die keine saure Reaktion zeigte, aber stark phenolartig roch. Nach Abdampfen blieb eine winzige Menge Trockensubstanz zurück, welche keine Fumarsäure war; sie war in Wasser löslich, in Alkohol dagegen unlöslich. Mit Natronkalk ließ sich kein Ammoniak

[1]) In diesem Zusammenhange verweise ich auf eine alte Beobachtung von *Neuberg* (H. 44, 154, 1905), nach der die mit Asparaginsäure, Fumarsäure und Bernsteinsäure zusammenhängende Dibrom-bernsteinsäure im Autoklaven Acetylen liefert. — [2]) Journ. Chem. Soc. London **119**, **193**.

nachweisen; die *Lasseigne*sche Probe auf Stickstoff fiel ebenfalls negativ aus. Die übriggebliebene Substanz war also stickstofffrei.

Wo könnte sich nun der gebundene Stickstoff befinden? Sollte Blausäure sich wieder zersetzen, so würde das bei wiederholten Gasanalysen auf irgend eine Weise zum Vorschein kommen; ebenfalls, wenn Stickstoff bzw. Blausäure von den Metallwandungen des Autoklaven absorbiert würden. Die einzige Stelle, wo die gebildete Blausäure zu suchen wäre, sind die Absorptionspipetten, mit welcher der Kohlensäuregehalt der Gasgemische bestimmt wurde. Der in geringsten Mengen entstandene Cyanstickstoff war natürlich im Gaszustande vorhanden und mit $CO_2$ zusammen von Kalilauge absorbiert worden.

**Versuche mit Bernsteinsäure.**

10 g Bernsteinsäure und 100 ccm Wasser.
*Erste Erhitzung*: 16 Stunden bei 180°.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 261 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 16 „ | 277 ccm. |

| | Genommen | Gefunden |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 71,9 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 52 ccm | 0 |
| N . . . . . . . . . . | 209 „ | 204 „ |

Minus-Stickstoff: 5 ccm.

*Zweite Erhitzung*: 18 Stunden bei 180°.

Luftraum . . . . 261 ccm
Minderdruck . . 138 „ , nachgefüllt mit $CO_2$
Gesamtvolumen: 261 ccm

| | Genommen | Gefunden | Gebildet |
|---|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 138 ccm | 163 ccm | 25 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 51 „ | 0 | |
| N . . . . . . . . . . | 209 „ | 98 „ | |

Minus-Stickstoff: 111 ccm.

*Dritte Erhitzung*: 18 Stunden bei 180°.

| | | |
|---|---|---|
| Luftraum . . . . | 260 ccm | Gesamtvolumen |
| Überdruck . . . | 13 „ | 273 ccm. |

| | Genommen | Gefunden |
|---|---|---|
| $CO_2$ . . . . . . . . . | 0 | 212 ccm |
| $O_2$ . . . . . . . . . . | 52 ccm | 0 |
| $N_2$ . . . . . . . . . . | 209 „ | 62 „ |

Minus-Stickstoff: 146 ccm.

Bei Zersetzung von Bernsteinsäure sind ähnliche Verhältnisse wie bei Fumarsäure vorhanden, da Bernsteinsäure dieselben ungesättigten naszenten Gruppen bildet.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich auf ähnliche Weise die Assimilation von Stickstoff auch unter mikrobiologischen Bedingungen vollzieht, da ungesättigte Verbindungen einerseits und Cyanwasserstoff andererseits anscheinend eine große Rolle bei Lebensvorgängen spielen.

# Über einige Produkte der katalytischen Spaltung des Roßhaares.

Von

**W. S. Ssadikow.**

(Aus dem Laboratorium für organische Chemie des wissenschaftlich-technischen Staatsinstituts zu Petrograd.)

*(Eingegangen am 12. Oktober 1923.)*

Ein Kilogramm des entfetteten Roßhaares wurde in einem Autoklaven bei $180^0$ 6 Stunden mit 1proz. HCl gespalten. Man erhält eine strohgelb gefärbte Flüssigkeit, welche sich nach einigen Stunden bei Luftzutritt in eine braunschwarze umwandelt. Bewahrt man dagegen das Katalysat in zugeschmolzenen Gefäßen auf, so bleibt auch nach mehreren Jahren die ursprüngliche gelbliche Farbe bestehen.

Nachdem das Katalysat von einer unbedeutenden Menge ungelösten Rückstandes abfiltriert war, wurde es andauernd zuerst mit Äther, dann mit Essigäther, ferner mit Chloroform und schließlich mit Amylalkohol erschöpft, was etwa 6 Wochen ununterbrochener Arbeit mit Extraktionsapparaten erforderte.

Im ätherischen Auszuge häufen sich schöne weiße Kristallmassen an, die in Äther nur wenig löslich sind, sowie eine bedeutende Menge des in Äther leicht löslichen Syrups.

Die Kristallmassen wurden abgetrennt, zuerst aus siedendem Wasser und dann mehrmals aus Alkohol umkristallisiert. Sie gaben keine Reaktionen auf Aminosäuren. Nachdem sie aber mit starker HCl gespalten waren, zeigte die Lösung nach Entfernen von HCl sowohl Ninhydrinreaktion als auch die Blaufärbung beim Kochen mit $CuCO_3$.

Wir haben also ein Peptidanhydrid vor uns.

Die durch Kristallisation gereinigte Substanz ist noch stark schwefelhaltig; beim Kochen mit Kalilauge und etwas Bleiacetatlösung scheidet sich sofort ein schwarzer Niederschlag aus. Um die Substanz von schwefelhaltigen Beimengungen zu befreien, habe ich sie mit kalter Ammoniaklösung behandelt, wobei die schwefelhaltigen Körper in Lösung gehen und man die in Ammoniak unlösliche Hauptsubstanz schwefelfrei erhält. Der schwefelhaltige Körper scheint auch anhydridartiger Natur zu sein. Die schwefelfreie Fraktion zeigte nach Umkristallisieren aus Alkohol den Schmelzpunkt $258^0$.

Die Analyse ergab folgende Zusammensetzung:

0,2105 g Substanz: 0,4751 g $CO_2$; 0,1742 g $H_2O$;
C = 61,65 Proz.; H = 9,19 Proz.
0,1596 g Substanz: 19,2 ccm N (754 mm; 24°)
N = 13,76 Proz.

| | Gefunden | Berechnet auf $C_{21}H_{36}N_4O_4$; | auf $C_{21}H_{38}N_4O_4$ |
|---|---|---|---|
| C . . . . | 61,65 Proz. | 61,76 Proz. | 61,46 Proz. |
| H . . . . | 9,19 „ | 8,82 „ | 9,27 „ |
| N . . . . | 13,76 „ | 13,72 „ | 13,66 „ |

0,5764 g der Substanz wurden mit konzentrierter HCl 6 Stunden gekocht. Nachdem HCl durch Abdampfen und Silberoxyd entfernt und die Lösung eingeengt war, blieb ein Sirup zurück, welcher auskristallisierte. Der Sirup wurde mit Methylalkohol in zwei Fraktionen getrennt, eine Hauptfraktion von in Methylalkohol unlöslichen Kristallen und in eine unbeträchtliche in Methylalkohol lösliche Nebenfraktion.

Aus der Hauptfraktion wurde durch Kochen mit $CuCO_3$ ein Kupfersalz dargestellt, das analysiert wurde und sich als *Leucin* erwies. Aus der Nebenfraktion wurde ebenfalls ein Kupfersalz bereitet, das sich stickstofffrei erwies und nach dem Kupfergehalt *Propionsäure* war.

| | |
|---|---|
| Gefunden . . . . . . | 30,20 Proz. Cu |
| Berechnet . . . . . | 30,10 ,, ,, |

Außer Leucin und Propionsäure konnten keine weiteren Spaltungsprodukte des Peptidanhydrids nachgewiesen werden.

Propionsäure ist wahrscheinlich bei Spaltung des Anhydrids aus Alanin entstanden. Zieht man nun in Betracht, daß die untersuchte Substanz nach ihrer Zusammensetzung wesentlich von Alanylleucinanhydrid abweicht (welches 58,69 Proz. C und 15,21 Proz. N enthält), und daß sie auf etwas andere Weise gespalten wird, auch ein höheres Molekulargewicht besitzt (402), so könnte man dem Anhydrid folgende hypothetische Konstitution zuschreiben:

$C_{21}H_{36}N_4O_4$

```
                   CH3  C4H9
                    |    |
      N=C(OH)-C - - C----CO-NH
      |             |    |          |
C4H9-CH-CO-----NH   NH-CO-CH-C4H9.
```

$C_{21}H_{38}N_4O_4$

```
                          CH3   C4H9
                           |     |
      NH--CH(OH)--C - - --C-----CO--NH
      |                    |     |         |
C4H9-CH--CO-----------NH   NH--CO--CH-C4H9.
```

Es ist schwer, zwischen diesen beiden Formeln zu entscheiden; die Analysenwerte stimmen besser mit Formel $C_{21}H_{38}N_4O_4$ überein. Wir haben also zwei gekoppelte Diketopiperacinringe oder eine Kuppelung von einem Diketopiperacinring mit einem hydrierten Diketopiperacin. Eine solche Struktur soll bei Spaltung hauptsächlich Leucin liefern.

### Untersuchung des Sirups aus dem Ätherauszug.

Der von den oben untersuchten Kristallmassen abgetrennte Sirup wurde nach längerem Aufbewahren kristallinisch. Die Kristalle wurden abgesaugt, aus Alkohol umkristallisiert und erwiesen sich als Peptidanhydrid. Die Substanz hatte den Schmelzpunkt 246°.

0,2040 g Substanz: 0,4662 g $CO_2$; 0,1732 g $H_2O$; C = 62,32 Proz.; H = 9,43 Proz.
0,1837 g Substanz: 21,5 ccm N (742 mm; 21°); N = 13,27 Proz.

| | Gefunden | Berechnet auf $C_{11}H_{20}N_2O_2$ (Valyl-leucin-anhydrid bzw. Leucyl-valin-anhydrid) |
|---|---|---|
| C | 62,32 Proz. | 62,21 Proz. |
| H | 9,43 „ | 9,50 „ |
| N | 13,27 „ | 13,21 „ |

Der zurückgebliebene Sirup schied nach Zusatz von Methylalkohol einen kristallinischen Niederschlag ab. Nach Umkristallisieren erhält man ein Anhydrid mit dem Schmelzpunkt 244°.

0,1000 g Substanz: 0,2282 g $CO_2$; 0,0846 g $H_2O$; C = 62,23 Proz.; H = 9,50 Proz. Die Substanz ist ebenfalls Valylleucinanhydrid.

Aus methylalkoholischer Lösung durch Zusatz von wässeriger Kalilauge wird eine stickstoffhaltige kristallinische Substanz abgeschieden, welche in Alkohol löslich, in Wasser fast unlöslich ist. Nach vorgenommener Reinigung blieb nur wenig Substanz, welche nur noch für eine einzige Analyse ausreichte.

0,2360 g Substanz: 0,6975 g $CO_2$; 0,2770 g $H_2O$; C = 80,60 Proz.; H = 13,04 Proz.

| | Gefunden | Berechnet auf $C_{15}H_{30}N$ |
|---|---|---|
| C | 80,60 Proz. | 80,35 Proz. |
| H | 13,04 „ | 13,39 „ |
| N aus Differenz | 6,36 „ | 6,25 „ |

Wir haben also eine organische Base, welche wahrscheinlich zyklisch gebaut ist und alkaloidähnlichen Charakter besitzt.

Das alkalische Filtrat von oben erwähnter Fällung wird mit Äther ausgezogen. Nach Abdunsten des Äthers bleibt ein kristallinischer Körper übrig, welcher einen starken pyridinähnlichen Geruch besitzt. Nach Umkristallisieren aus Wasser bekommt man eine Substanz vom Schmelzpunkt 196°.

Sie zeigt keine Reaktionen auf Aminosäuren, auch nach dem Kochen mit HCl.

0,2100 g Substanz: 0,4350 g $CO_2$; 0,1354 g $H_2O$;
C = 56,49 Proz.; N = 7,16 Proz.
0,1576 g Substanz: 15,55 ccm N (761 mm; 18°);
N = 11,41 Proz.

| | Gefunden | Berechnet auf $C_6H_9NO_2$ |
|---|---|---|
| C | 56,49 Proz. | 56,70 Proz. |
| H | 7,16 „ | 7,08 „ |
| N | 11,41 „ | 11,02 „ |

Die Substanz ist wohl Methyldiketopiperidin:

```
            CH2
           /   \
CH3 . HC        CO
       |        |
       CO       CH2
          \   /
           NH
```

Die mit Äther erschöpfte alkalische Lösung des Sirups wurde neutralisiert, abgedampft und der Rückstand mit Alkohol ausgezogen. Der Auszug zeigte keine Reaktionen auf Aminosäuren. Nach Einengen erhält man einen Sirup, aus welchem beim Aufbewahren sich wieder Kristalle abscheiden. Nach Fraktionierung erhält man zwei Körper, einen mit Schmelzpunkt 224° und einen anderen mit Schmelzpunkt 206°.

*Substanz mit Schmelzpunkt 224°.*

0,1860 g; 0,4133 g $CO_2$; 0,1572 g $H_2O$; C = 60,60 Proz.; H = 8,20 Proz.
0,1256 g; nach *Kjeldahl*: N = 13,96 Proz.

| | Gefunden | Berechnet auf $C_{10}H_{16}N_2O_2$; | auf $C_{10}H_{18}N_2O_2$ |
|---|---|---|---|
| C | 60,60 Proz. | 61,22 Proz. | 60,60 Proz. |
| H | 8,20 „ | 8,16 „ | 9,09 „ |
| N | 13,96 „ | 14,28 „ | 14,14 „ |

Die Substanz kann folgende Struktur besitzen:

```
       C10H18N2O2                        C10H16N2O2
C2H5 . CH—CO—NH                   C2H5—C—CO—NH
       |      |                          ||     |
       NH—CO—CH . C4H9.                  N—CO—CH . C4H9.
```

Sie ist entweder etwas verunreinigtes Butalanylleucinanhydrid oder dehydriertes Diketopiperacinderivat.

*Substanz mit Schmelzpunkt 206°.*

0,1387 g; 0,2971 g $CO_2$; 0,1131 g $H_2O$; C = 58,41 Proz.; H = 9,06 Proz.
0,1674 g; nach *Kjeldahl*: N = 13,67 Proz.

| | Gefunden | Berechnet auf $C_{20}H_{34}N_4O_5$ |
|---|---|---|
| C | 58,41 Proz. | 58,25 Proz. |
| H | 9,06 „ | 8,73 „ |
| N | 13,67 „ | 13,60 „ |

Der Substanz könnte man folgende hypothetische Struktur zuschreiben:

```
                    C4H9  C4H9
                     |     |
           NH—CO—C————C————CO—NH
            |        |     |       |
C4H9—CH—CO—NH   NH—CO—CH.OH.
```

Aus dem Sirup des Ätherextraktes wurden noch mehrere Fraktionen in winzigen Mengen und anscheinend verunreinigt erhalten. Sie näher zu untersuchen, wäre erst nach Beschaffen einer weit größeren Menge Materials möglich. Im Ätherauszuge des Katalysats von Roßhaaren konnten wir eigenartige Substanzen auffinden. Mehrere von ihnen sind nach ihrer Konstitution noch nicht gänzlich aufgeklärt, doch steht es fest, daß sie zyklische Verbindungen sind und zu den Klassen von Diketopiperacinen und Diketopiperidinen gehören.

---

Die Essigäther- und Amylalkoholextrakte und mehrere aus ihnen abgeschiedene anhydridartige Fraktionen sind mir leider verloren gegangen und ich konnte nur den Chloroformauszug des Katalysats näher untersuchen.

### Chloroformauszug.

Der Chloroformextrakt wurde mit Wasser ausgeschüttelt und in zwei Teile getrennt, ein in Wasser löslicher (A) und in Wasser unlöslicher (B). Beide Teile gaben nach dem Abdunsten des Lösungsmittels Sirupe, welche aus Peptidanhydriden bestehen und beim Aufbewahren bzw. Behandlung mit Alkohol, Äther usw. kristallinische Fraktionen abscheiden.

A. Erste Fraktion gab ein Anhydrid mit Schmelzpunkt 261°.

0,0822 g Substanz: 0,1883 g $CO_2$; 0,0732 g $H_2O$

| | Gefunden | Berechnet für $C_{11}H_{20}N_2O_2$ (Valylleucinanhydrid) |
|---|---|---|
| C . . . . | 62,47 Proz. | 62,21 Proz. |
| H . . . . | 9,89 „ | 9,50 „ |

Zweite Fraktion: Schmelzpunkt 260°.

0,1150 g Substanz: 0,2462 g $CO_2$; 0,0922 g $H_2O$;
C = 58,38 Proz.; H = 8,90 Proz.
0,0591 g Substanz: nach *Kjeldahl*: N = 15,52 Proz.

| | Gefunden | Berechnet für $C_9H_{16}N_2O_2$ (Alanylleucinanhydrid) |
|---|---|---|
| C . . . . | 58,38 Proz. | 58,69 Proz. |
| H . . . . | 8,90 „ | 8,70 „ |
| N . . . . | 15,52 „ | 15,22 „ |

Dritte Fraktion: Schmelzpunkt 255°.

0,0855 g Substanz: 0,1847 g $CO_2$; 0,0637 g $H_2O$; C = 58,90 Proz.; H = 8,27 Proz.

Es ist wieder etwas verunreinigtes Alanylleucinanhydrid.

Vierte Fraktion: Schmelzpunkt 170°.

0,1816 g Substanz: 0,4094 g $CO_2$; 0,1270 g $H_2O$; C = 61,70 Proz.; H = 7,78 Proz.
0,1193 g Substanz: nach *Kjeldahl*: N = 10,83 Proz.

| | Gefunden | Berechnet für $C_{13}H_{20}N_2O_3$ |
|---|---|---|
| C | 61,70 Proz. | 61,90 Proz. |
| H | 7,78 „ | 7,93 „ |
| N | 10,83 „ | 11,11 „ |

Dem Anhydrid könnte man vielleicht folgende Konstitution zuschreiben:

$$\begin{array}{l} C_6H_4(OH)-CH_2-HC\text{——}CH(OH)-NH \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\; NH-CH(OH)-CH-CH_2-CH_3 \end{array}$$

Wir haben es also mit einem Dihydropiperacinderivat zu tun.

Nach Abscheiden dieser Fraktionen bleibt noch eine beträchtliche Menge von anhydridartigem Sirup.

B. Aus dem in Wasser unlöslichen Teile des Chloroformextraktes erhielt ich nur eine kristallinische Fraktion mit dem Schmelzpunkte 222°. Das Anhydrid war anscheinend nicht ganz rein, was der niedrige Schmelzpunkt anzeigt; der Analyse nach stimmt die Zusammensetzung gut mit Alanylleucinanhydrid überein.

0,1302 g Substanz: 0,2816 g $CO_2$; 0,0993 g $H_2O$; C = 58,98 Proz.; H = 8,47 Proz.

Berechnet für Alanylleucinanhydrid: C = 58,69 Proz.; H = 8,69 Proz.

Es blieb eine größere Menge Sirup zurück, welcher aus Anhydriden bestand. Da es trotz vieler Bemühungen nicht gelang, faßbare Substanzen abzuscheiden, habe ich ein Verfahren der nicht tief greifenden Sprengung mit kaltem Bromwasser angewendet.

### Untersuchung des Sirups aus dem Chloroformextrakt B.

Der Sirup wurde in 80proz. Essigsäure gelöst und zur Lösung Bromwasser hinzugesetzt; dabei entsteht eine harzartige Fällung, welche vernachlässigt wurde. Das Filtrat von dieser Fällung wurde zwecks Entfernung von HBr mehrmals abgedampft, der Rückstand in Alkohol aufgenommen und die alkoholische Lösung abfiltriert. Nach Abdunsten des Alkohols wird der Rückstand in Wasser gelöst und die schwach braun gefärbte Lösung mit $CuCO_3$ gekocht. Das erhaltene Filtrat gibt eine grüne Lösung, welche eingeengt wurde. Man erhält einen Sirup, welcher in Alkohol löslich ist. Die alkoholische Lösung wird wieder zum Sirup abgedampft und der Sirup mit Wasser behandelt. Es entsteht eine braune Fällung, welche abfiltriert wird. Das grüne Filtrat wird eingeengt, der Rückstand in Alkohol aufgenommen, wieder zum Sirup abgedampft und mit Wasser behandelt. Nun fällt ein voluminöser

Niederschlag von einem braungefärbten brom-, stickstoff- und kupferhaltigen Körper aus, welcher, nach Absaugen und Trocknen bei Zimmertemperatur über Schwefelsäure, analysiert wurde. Die Substanz ist hygroskopisch und zersetzt sich beim Trocknen bei einer Temperatur von 105°.

Da die Substanz stark bromhaltig ist, wurden die Bestimmungen des Kupfergehalts nach der *Carius*schen Metode ausgeführt. Die Verbrennung wurde unter Anwendung einer etwa 6 cm langen Silberwatteschicht vorgenommen, welche aus feinem Silberdraht bereitet wurde.

| | | |
|---|---|---|
| 0,1869 g | Substanz: | 0,0388 g CuO; Cu = 16,59 Proz. |
| 0,1833 g | ,, | 0,0379 g CuO; Cu = 16,52 ,, |
| 0,2136 g | ,, | 0,1531 g AgBr; Br = 30,51 ,, |
| 0,2035 g | ,, | 0,1448 g AgBr; Br = 30,29 ,, |
| 0,1849 g | ,, | *Kjeldahl* N = 5,68 Proz. |
| 0,3405 g | ,, | ,, N = 5,55 ,, |
| 0,2193 g | ,, | 0,1942 g $CO_2$; 0,0755 g $H_2O$; C = 24,15 Proz.; H = 3,82 Proz. |

| | Gefunden | Berechnet für $C_{16}H_{26}N_3Br_3Cu_2O_{10}$ |
|---|---|---|
| C | 24,15 Proz. | 24,35 Proz. |
| H | 3,82 „ | 3,30 „ |
| N | 5,61 „ | 5,34 „ |
| Br | 30,40 „ | 30,38 „ |
| Cu | 16,56 „ | 16,03 „ |

Die Konstitution dieser Verbindung kann man sich folgendermaßen vorstellen:

```
     NHBr            NHBr            NHBr
      |               |               |
OOC-CH-CH2-CH2-CH-CH-CH2-CH2-CH-CH-CH2-CH2-CH2
 |               |            |      |           . 2 H2O
Cu--------------OOC          COO--Cu--OOC
```

Wir haben also ein Kupfersalz einer Tetracarbonsäure, welche drei bromierte Aminogruppen enthält. Das Kupfersalz besitzt zwei Moleküle Kristallwasser.

Die Säure selbst wird also folgendermaßen gestaltet:

```
         NH2   HOOC                          NH2   HOOC
          |     |                             |     |
HOOC-CH CH2-CH2-CH-CH-CH2-CH2-CH-CH-CH2-CH2-CH2
                     |     |
                    NH2   HOOC
```

Diese Säure dürfte aus dem ursprünglich im Sirup vorhandenen Anhydrid enstanden sein, und dieses Anhydrid kann man rekonstruieren, wenn man Amino- und Carboxylgruppen miteinander unter Wasserabgabe verknüpft und die endständige Carboxylgruppe, welche durch Oxydation einer Methylgruppe erhalten wurde, regeneriert.

Das Anhydrid bekommt folgendes Aussehen:

```
      NH————————OC                  NH————————OC
      |          |                   |          |
CH3 . CH-CH2-CH2-CH-CH-CH2-CH2-CH-CH-CH2-CH2-CH2
                    |           |
                    NH——————————OC
```

Wir haben also eine dreigliedrige Kette von Ketopiperidinringen.

---

Bei katalytischer Spaltung des Roßhaares in Äther- und in Chloroformfraktionen begegnen wir mannigfaltigen zyklischen Verbindungen, nämlich: 1. solchen, welche bei Säurehydrolyse einfache Aminosäuren liefern — das sind Diketopiperacine, einfache und gekoppelte (Peptide und Dipeptide) —; 2. solchen, welche bei Hydrolyse sich auf irgendeine kompliziertere Weise umwandeln; dazu gehören Keto- und Diketopiperidine, wiederum einzelne und gekoppelte. Eine eingehende Untersuchung dieser Substanzen, wie sie in einzelnen Extraktionsfraktionen der Katalysate verschiedener Eiweißkörper vorkommen, dürfte wohl von größerer Bedeutung sein.

---

# Über Säurequellung des Froschmuskels.

## (Beiträge zu einer Kritik der M. H. Fischerschen Ödemtheorie.)

Von

**Alexander Belák.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der k. ungarischen St.-Tisza-Universität in Debreczen.)

*(Eingegangen am 12. Oktober 1923.)*

Die Theorie von *M. H. Fischer*[1]) über die Säureentstehung des Ödems hat mich bereits viele falsche Folgerungen gekostet, als ich mich endlich zur Nachprüfung der Grundfrage: Gibt es überhaupt eine Säuremehrquellung des Muskels? entschlossen habe. Die zum größten Teil bereits in den Jahren 1920 und 1922 ausgeführten Versuche sind hier kurz mitgeteilt.

Die Quellungsversuche sind an Froschmuskeln ausgeführt worden. Nach meinen früheren Beobachtungen[2]) gestaltet sich die Quellung verschiedener Muskelgruppen nicht einheitlich, deswegen habe ich zu Kontrollbestimmungen auch hier stets kongruente Muskelgruppen desselben Tieres gleichmäßig präpariert und möglichst von gleichem Gewichte angewendet. Die Muskelstücke wurden vor der Wägung mit Filtrierpapier abgetrocknet. Die Menge der Quellungsflüssigkeit betrug immer das Zehnfache des ursprünglichen Muskelgewichtes. Der Versuch dauerte 24 Stunden lang. Alle Säureversuche sind mit Salzsäure ausgeführt. Neben der Säurequellung wurde auch die Wasserquellung als Maßstab des Quellungsvermögens bestimmt. Aus diesen beiden Zahlen ergab sich durch Berechnung der Quotient $\frac{S}{W} = \frac{\text{Säurequellung in Proz.}}{\text{Wasserquellung in Proz.}}$, welcher einen zahlenmäßigen Vergleich beider Werte gestattet.

Einige meiner auf diese Weise gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt. Der Quotient $S/W$ zeigt deutlich, daß geringe Säurekonzentrationen von der Normalität $^1/_{800}$ bis $^1/_{100}$ die Quellung *hemmen*. Die Größe dieser Hemmung hängt von der Konzentration der Säure ab, und zwar in dem Sinne, daß dieselbe etwa bei der Normalität $^1/_{400}$ bis $^1/_{200}$ ein Maximum erreicht, um in konzentrierteren Lösungen wieder abzunehmen, so daß der Muskel bei der Konzentration n/100 gewöhnlich wieder stärker quillt als in verdünnteren

---

[1]) *M. H. Fischer*, Das Ödem. Dresden, Steinkopff, 1910.

[2]) *Belák*, Über Muskelquellung speziell unter Wirkung des Coffeins. Diese Zeitschr. 83, 167, 1917.

Salzsäure- und Wasserquellung des Froschmuskels. Die von verschiedenen Tieren stammenden Ergebnisse sind durch punktierte Linien getrennt. Add. = Adductor; Abd. = Abductor[1]).

| Nr. und Datum | Art des Muskels | HCl-Säurequellung | | | Wasserquellung | | $\frac{S}{W}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Konzentration | Gewicht des Muskels | Gewichtszunahme in Proz. | Gewicht des Muskels | Gewichtszunahme in Proz. | |
| Nr. 1 | Add. | n/800 | 1,55 | 56,1 | 1,59 | 58,6 | 0,95 |
| 23. IV. | Abd. | n/400 | 1,05 | 36,6 | 0,90 | 39,4 | 0,92 |
| 1920 | Add. | n/200 | 2,15 | 33,9 | 2,11 | 47,4 | 0,71 |
| | Abd. | n/100 | 1,33 | 17,3 | 1,36 | 33,8 | 0,51 |
| Nr. 2 | Add. | n/800 | 1,25 | 52,0 | 1,40 | 58,6 | 0,88 |
| 26. IV. | Abd. | n/400 | 1,37 | 21,9 | 1,31 | 42,7 | 0,51 |
| 1920 | Add. | n/200 | 1,24 | 28,0 | 1,09 | 41,2 | 0,68 |
| | Abd. | n/100 | 0,93 | 19,3 | 0,97 | 26,8 | 0,72 |
| Nr. 3 | Add. | n/800 | 1,17 | 41,8 | 1,09 | 44,9 | 0,93 |
| 27. IV. | Abd. | n/400 | 0,72 | 26,4 | 0,87 | 31,0 | 0,85 |
| 1920 | Add. | n/200 | 0,84 | 33,2 | 0,89 | 51,5 | 0,64 |
| | Abd. | n/100 | 0,63 | 39,7 | 0,69 | 49,2 | 0,80 |

Lösungen. Bei der Normalität $^1/_{50}$ (in hier nicht angeführten Versuchen) ist die Säurequellung immer stärker als die entsprechende Wasserquellung.

Dieses Verhalten des Muskels läßt sich übrigens auch theoretisch voraussagen, denn die Versuche von *Höber* und *Spaeth*[2]) über die Wirkung dreiwertiger Kationen auf die Muskelerregbarkeit lassen darauf schließen, daß die Muskelkolloide — wie die meisten im Tierkörper — negativ geladen sind, d. h. daß ihr isoelektrischer Punkt bei einer schwach sauren Reaktion liegt. Ist nun dies tatsächlich der Fall, so muß das Wasserbindungsvermögen des Muskels in einer schwachen Säure abnehmen; erst wenn der isoelektrische Punkt erreicht bzw. überschritten ist, kann die Quellungsfähigkeit des Muskels wieder zunehmen. Die Mehrquellung des Muskels in Säurelösungen ist demnach erst bei einer verhältnismäßig starken Konzentration möglich, und sie ist unbedingt mit einer *Umladung* der Muskelkolloide verbunden. Unsere Versuche zeigen nun tatsächlich, daß die Säurequellung des Muskels in bezug auf die Wasserquellung in einer schwachen Säure abnimmt und daß sie erst bei stärkeren Konzentrationen zunimmt. Diese Versuchsergebnisse stimmen nun mit den Angaben *M. H. Fischers* durchaus nicht überein. Seine Tabelle[3]) über die Säurequellung des Froschgastronemicus weist mit auffallender Regelmäßigkeit eine mit der Säurekonzentration Hand in Hand gehende Zunahme der Quellung auf. Die angewandten Konzentrationen reichen

[1]) Vgl. *Belák*, Über Muskelquellung usw. Diese Zeitschr. 88, 184.
[2]) *Höber*, Physikalische Chemie der Zelle, 4. Aufl., S. 484.
[3]) l. c., S. 60.

bei ihm von etwa n/4400 bis n/100. Ich kann für dieses entgegengesetzte Verhalten unserer Versuchsergebnisse kaum eine andere Erklärung finden als die Mangelhaftigkeit der Kontrollbestimmungen *M. H. Fischers*. Nach meinen[1]) reichlichen und gründlichen Erfahrungen über Muskelquellung ist es namentlich — wegen der Unterschiede in der Quellbarkeit — absolut unstatthaft, die Quellung zweier, von verschiedenen Tieren stammenden Muskeln miteinander unmittelbar zu vergleichen; deshalb führe ich die Kontrolle einer jeden Bestimmung mit dem völlig kongruenten Muskelstück desselben Tieres aus. Das Verhalten eines einzigen Muskelstückes einer ganzen Untersuchungsreihe zugrunde zu legen, halte ich deshalb für nicht beweisend.

Nach meinen Ergebnissen nimmt somit die Quellbarkeit des Muskels erst in einer verhältnismäßig starken Säurelösung zu; die Säurequellungstheorie des Ödems in bezug auf den Muskel kann folglich um so weniger Stich halten, als diese Säurekonzentrationen außerhalb der physiologischen Möglichkeiten liegen und die Mehrquellung durch Säure, den obigen Auseinandersetzungen entsprechend, eine — in vivo kaum mögliche — Umladung der Muskelkolloide bedingen würde.

Daß die an der Gelatine und dem Fibrin gewonnenen Analogien nicht unmittelbar auf den Muskel zu übertragen sind, haben wir soeben gesehen. Anschließend an diese Untersuchungen, suchte ich aber noch Klarheit über die Froschbeinödeme *M. H. Fischers* zu schaffen, um so mehr, als auch diese als Säureödeme gedeutet werden. Ich schenkte dieser Auffassung von vornherein keine Zustimmung und untersuchte, ob zum Eintritt der Gewichtszunahme eines in Wasser eingehängten, abgebundenen Froschbeines der kolloidale Inhalt, der Muskel, überhaupt notwendig ist. Wir wissen doch von der Froschhaut, daß sie auch physiologisch stets Wasser aufnimmt, welches sodann in die Zirkulation gelangt und von den Nieren dauernd ausgeschieden wird; diese Eigenschaft steht, wie bekannt, im Dienste der Osmoseregulation. Wird ein Froschbein abgebunden, so könnte die überlebende Haut noch weiterhin Wasser aufsaugen, welches aber mangels Zirkulation an Ort und Stelle liegen bleibt und eine Gewichtszunahme verursacht. Ich habe nun eine Reihe von Versuchen in der Weise angestellt, daß ich den gesamten Inhalt des Froschbeines — Knochen und Muskel — entfernte und den Versuch entweder mit der abgebundenen leeren Hauthülle vornahm, oder aber den Inhalt vor dem Einhängen in Wasser mit Baumwolle ersetzte. Um zu sehen, ob es sich tatsächlich um eine physiologische Richtung der Wasserdurchlässigkeit handelt, habe ich die Versuche auch mit der gewendeten Froschhaut wiederholt. Um Raum zu sparen, werde ich auf die Wiedergabe sämtlicher Versuchs-

[1]) l. c., S. 178.

ergebnisse um so mehr verzichten, als sie alle eindeutig ausfielen, und werde nur einige Beispiele anführen, um zu zeigen, daß zum Zustandekommen des Froschbeinödems (Gewichtszunahme) der kolloidale Inhalt durchaus nicht nötig ist, und daß die Gewichtszunahme sogar mit der leeren Froschhaut in genau derselben Weise erfolgt, als wenn Muskel und Knochen unversehrt anwesend sind.

So nahm einmal ein unversehrtes Froschbein (Gewicht 4,77 g), in Wasser eingehängt, in 24 Stunden 1,27 g Wasser auf; das andere leere Bein desselben Tieres (2,55 g) in derselben Frist 1,67 g. Von dieser Gewichtszunahme entfielen 0,50 g auf das Quellungswasser der Haut, während 1,17 g frei im Hohlraume vorgefunden wurden. In einem anderen Versuche war die Gewichtszunahme unversehrt: 1,82 g, leer 0,91 g, davon 0,57 g inbibiert. In weiteren Versuchen gestaltete sich die Wasseraufnahme wie folgt: unversehrt 1,42 g, leer 1,57 g; unversehrt 1,50 g, leer 1,76 g usw. Es wurde selbstverständlich überall für schonende Handhabung und Vermeidung eines Hineinfließens des Wassers in das Innere des Präparates durch sorgfältiges Abbinden und Aufhängen über das Wasserniveau gesorgt.

Die mit der gewendeten Froschbeinhaut angestellten Versuche wiesen keine nennenswerten Unterschiede gegenüber den soeben besprochenen auf, so daß es sich hier nicht um das Überdauern der physiologischen Wasseraufnahme, sondern um eine einfache physikalische Wasserdurchlässigkeit handelt. Jedenfalls ist die Anwesenheit der Muskelkolloide auch in diesem Falle keine Vorbedingung der Gewichtszunahme. Daß sich anwesende Kolloide in Mangel eines Abflusses mit Wasser inbibieren, sagt übrigens wohl nichts über die Entstehung der Ödeme aus, um so weniger über die Rolle der Säuren bei derselben.

Durch vorliegende Untersuchungen konnte somit erwiesen werden, daß die Quellbarkeit des Froschmuskels durch physiologisch in Betracht kommende Säurekonzentrationen nicht gefördert, vielmehr gehemmt wird, und daß der Unterbindungsversuch *M. H. Fischers* auch ohne Anwesenheit der Muskelkolloide gelingt, da er auf der Wasserdurchlässigkeit der Froschhaut beruht. In früheren Untersuchungen habe ich[1]) die Möglichkeit einer Mehrquellung der Blutserumkolloide zufolge Säurewirkung abgelehnt, und andere Autoren [*Schade* und *Menschel*[2])] haben dasselbe vom Bindegewebe nachgewiesen. Die *Säure*quellungstheorie des Ödems von *M. H. Fischer* läßt sich somit kaum mehr aufrecht erhalten[3]), womit aber nicht gesagt werden soll, daß Quellungserscheinungen im allgemeinen bei derartigen Prozessen überhaupt keine Rolle zukommen könnte.

---

[1]) *Belák*, Die Wirkung von Säuren auf den Zustand der Blutserumeiweißkörper. Diese Zeitschr. **90**, 96, 1918.

[2]) Kolloid-Zeitschr. **31**, 171, 1922.

[3]) Eine zusammenfassende Kritik der Frage bei *Schade*, Die physikalische Chemie in der inneren Medizin, 3. Aufl., S. 399, 1923.

# Zur Kenntnis der Kartoffelamylase.

(Zerlegung in eine organische Komponente und Neutralsalze.)

Von

**Hugo Haehn und Hans Schweigart.**

(Aus dem Institut für Gärungsgewerbe zu Berlin.)

*(Eingegangen am 13. Oktober 1923.)*

Die Tätigkeit der Kartoffelamylase ist in den verschiedenen Stadien der Lagerzeit, Herbst, Winter, Frühling, verschieden stark. *Doby* und *Bodnar*[1]) nehmen an, daß die Zelle die Amylase in Form eines Zymogens enthält, das allmählich in den aktiven Zustand übergeht, und zwar mit Hilfe proteolytischer Enzyme. Man kann sich aber auch vorstellen, daß die Mobilisierung der nicht reaktionsfähigen Enzymkomponente auch durch Aktivatoren wie Neutralsalze geschieht. Aus diesem Grunde haben Versuche über die Aktivatoren der Amylase und den Aufbau ihres Enzymsystems besonderes biochemisches Interesse.

### 1. Einfluß der Neutralsalze auf die amylatische Kraft des Kartoffelpreßsaftes.

Seit langem ist beobachtet worden, daß verschiedene Enzyme in ihrer Wirkung durch anorganische Salze unterstützt werden.

Bei den Amylasen tierischen Ursprungs hat man die Bedeutung der Neutralsalze der Alkalimetalle sehr früh erkannt, und auch bei der Malzamylase liegen die Verhältnisse ähnlich (*Lintner* 1887, *Effront* 1892). *Doby*[2]) fand, daß Natriumfluorid die Wirkung der Kartoffelamylase erheblich verstärkt, während Chlornatrium und einige andere Salze hemmend wirken sollten. In neuerer Zeit studierte *W. S. Iljin*[3]) den Einfluß der Salze auf Pflanzendiastasen und fand je nach der Stärke der Konzentration eine Hemmung oder Beschleunigung des Stärkeabbaues.

Da die Neutralsalze, wie wir besonders im dritten Teil dieser Arbeit sehen werden, für das Amylasesystem eine sehr große Bedeutung haben,

---

[1]) *G. Doby* und *J. Bodnar*, diese Zeitschr. **68**, 191, 1915.

[2]) *Doby*, ebendaselbst **67**, 166, 1914.

[3]) *W. S. Iljin*, ebendaselbst **132**, 511, 1922.

so soll hier zunächst der Einfluß dieser Salze auf das ursprüngliche Kartoffelenzym untersucht werden.

Zur Prüfung auf amylatische Kraft wurde Kartoffelpreßsaft in der Weise gewonnen, daß die gereinigten Knollen zunächst in einer Küchenreibemaschine zerkleinert und dann mittels Handpresse ausgepreßt wurden. Von den Zellresten und Stärkekörnern wurde abzentrifugiert. Der filtrierte frische Preßsaft hat eine rötliche Farbe, die bekanntlich allmählich in Melanin[1]) übergeht. Seine Reaktion ist schwach sauer. Dieser Preßsaft wurde nun auf seine verzuckernde Wirkung geprüft. Als Substrat kam immer die käufliche lösliche Stärke (*Kahlbaum*), die durch tropfenweises Eingießen ihrer Suspension in kochendes Wasser gelöst wurde, zur Verwendung (1 Proz.).

Die Versuchsanordnung der Verzuckerungsversuche war die von *Wohlgemuth*[2]) angegebene. Obgleich diese Methode nicht die beste ist, so gestattet sie ihrer Einfachheit halber, in kurzer Zeit eine große Anzahl von Versuchen auszuführen, und da wir in dieser Arbeit, die nur *orientierenden* Charakter haben soll, in der Hauptsache nur die qualitativen Einflüsse verschiedener Stoffe auf das verzuckernde Prinzip des Kartoffelsaftes kennen lernen wollten, so leistet sie sehr gute Dienste.

Desgleichen haben wir auch in der ganzen Arbeit die Wasserstoffionenkonzentration des Reaktionsmediums nicht berücksichtigt. Es konnte uns hier, da keine reinen Amylasepräparate zur Verfügung standen, nicht auf quantitative Ergebnisse, sondern nur auf die Kenntnis der Eigenschaften der Amylase im allgemeinen ankommen. Es wurde folgendermaßen gearbeitet. Zehn Reagenzgläser wurden mit je 0,5 ccm Stärkelösung (1proz.) beschickt und jedes Glas in aufsteigender Reihe mit 0,1 bis 1,0 ccm Enzymlösung versetzt. Damit bei allen Versuchen gleiche Verdünnungsverhältnisse obwalten, so kam so viel Wasser hinzu, daß jedes Glas mit 10 ccm Flüssigkeit gefüllt war. Als Antiseptikum diente meist Thymol, in wenigen Fällen Toluol. Der Verzuckerungsprozeß ging bei 37$^0$ vor sich. Am Ende der Versuchszeit wurde der Inhalt der Gläser aufgekocht und filtriert. Auf Zusatz von Jodlösung zeigte die Verfärbung den Grad der Verzuckerung an.

Auf Tabelle I finden wir die amylatische Kraft des Preßsaftes dargestellt. Die hydrolysierende Wirkung ist ziemlich bedeutend, denn um einen roten Farbenton (Erythrodextrin) zu bekommen, sind nur 2 Stunden nötig, allerdings 0,8 ccm Kartoffelsaft auf 0,5 ccm Stärkelösung. Der Saft entstammte einer Frühjahrsknolle, in der bekanntlich ein lebhafter Stoffwechsel vor sich geht, um für den Keim lösliche Kohlehydrate zu mobilisieren.

---

[1]) *H. Haehn*, diese Zeitschr. **105**, 169, 1920.

[2]) *Wohlgemuth*, ebendaselbst **9**, 1, 1908.

*Tabelle I.* Amylatische Kraft von Kartoffelpreßsaft.

| Nr. | Frischer Preßsaft (im März) ccm | Zusatz von Wasser ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 2 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 9,4 | 0,5 | violett |
| 2 | 0,2 | 9,3 | 0,5 | „ |
| 3 | 0,3 | 9,2 | 0,5 | „ |
| 4 | 0,4 | 9,1 | 0,5 | violettrot |
| 5 | 0,5 | 9,0 | 0,5 | „ |
| 6 | 0,6 | 8,9 | 0,5 | „ |
| 7 | 0,7 | 8,8 | 0,5 | „ |
| 8 | 0,8 | 8,7 | 0,5 | rotbraun |
| 9 | 0,9 | 8,6 | 0,5 | rotviolett |
| 10 | 1,0 | 8,5 | 0,5 | „ |
| 11 | Kontrolle | 9,5 | 0,5 | dunkelblau |

*Resultat:* Der Kartoffelpreßsaft enthält ein amylatisches Enzym.

*Tabelle II.* Einfluß von NaF auf die amylatische Kraft von Kartoffelpreßsaft.

| Nr. | Frischer Preßsaft (im März) ccm | Zusatz von Wasser ccm | 3 proz. NaF-Lösung ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 2 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 8,9 | 0,5 | 0,5 | braun |
| 2 | 0,2 | 8,8 | 0,5 | 0,5 | hellbraun |
| 3 | 0,3 | 8,7 | 0,5 | 0,5 | hellbraungelb |
| 4 | 0,4 | 8,6 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 5 | 0,5 | 8,5 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 6 | 0,6 | 8,4 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 7 | 0,7 | 8,3 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 8 | 0,8 | 8,2 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 9 | 0,9 | 8,1 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 10 | 1,0 | 8,0 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 11 | Kontrolle | 9,5 | — | 0,5 | dunkelblau |
| 12 | „ | 9,0 | 0,5 | 0,5 | rotviolett |

*Resultat:* Fluornatrium aktiviert die Kartoffelamylase. Vergleich mit Tabelle I.

*Tabelle III.* Einfluß von NaCl auf die amylatische Kraft von Kartoffelpreßsaft.

| Nr. | Frischer Preßsaft (im März) ccm | Zusatz von Wasser ccm | n/10 NaCl-Lösung ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 2 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 8,9 | 0,5 | 0,5 | rot |
| 2 | 0,2 | 8,8 | 0,5 | 0,5 | rotbraun |
| 3 | 0,3 | 8,7 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 4 | 0,4 | 8,6 | 0,5 | 0,5 | braun |
| 5 | 0,5 | 8,5 | 0,5 | 0,5 | hellbraun |
| 6 | 0,6 | 8,4 | 0,5 | 0,5 | hellbraungelb |
| 7 | 0,7 | 8,3 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 8 | 0,8 | 8,2 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 9 | 0,9 | 8,1 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 10 | 1,0 | 8,0 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 11 | Kontrolle | 9,5 | — | 0,5 | dunkelblau |
| 12 | „ | 9,0 | 0,5 | 0,5 | rot |

*Resultat:* Chlornatrium aktiviert die Kartoffelamylase. Vergleich mit Tabelle I.

Mit demselben Kartoffelpreßsaft wurden nun die Aktivierungsversuche mit Hilfe der Neutralsalze angesetzt. Wir prüften zunächst Fluornatrium auf seine Wirkung, da dieses Salz oft als Antiseptikum benutzt worden war. Wir fanden ebenso wie *Doby*[1]) eine starke positive Reaktion (Tabelle II), weshalb bei der Verwendung dieses Salzes eine gewisse Vorsicht anzuraten ist, namentlich bei Verzuckerungsversuchen. Wir wissen noch nicht, welchem Ion die Wirkung zugeschrieben werden muß. Unser Präparat reagierte alkalisch, vielleicht ist das Hydroxyl mehr als das Fluorion verantwortlich zu machen. Jedenfalls haben wir den interessanten Befund einer im alkalischen Milieu reagierenden Pflanzenamylase (vgl. *W. Biedermann*, Fermentforschung 4, 284). Wir verzichteten zunächst auf die völlige Klärung dieser Frage, da andere Probleme unser ganzes Interesse in Anspruch nahmen. Wir vermuteten nämlich in den Chlorionen der Alkali- und Erdalkalimetalle wichtige Aktivatoren, und, wie die Tabellen III und IV zeigen, war auch unsere Ansicht richtig: Chlornatrium und Chlorcalcium aktivieren die Kartoffelamylase stark, das Natriumsalz mehr als das Calciumsalz (Tabelle III und IV). Außer diesen Salzen kamen noch Chlorkalium, Chlorbarium und Chlormagnesium zur Prüfung, die alle fördernden Einfluß ausübten. Eine Hemmung des diastatischen Prozesses trat jedoch ein, wenn Schwermetalle wie Zink, Cadmium, Blei und Kupfer in Form m/10 Lösungen angewendet wurden.

*Tabelle IV.*

Einfluß von $CaCl_2$ auf die amylatische Kraft von Kartoffelpreßsaft.

| Nr. | Frischer Preßsaft (im März) ccm | Zusatz von Wasser ccm | n/10 $CaCl_2$-Lösung ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 2 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 8,9 | 0,5 | 0,5 | violettrot |
| 2 | 0,2 | 8,8 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 3 | 0,3 | 8,7 | 0,5 | 0,5 | rotviolett |
| 4 | 0,4 | 8,6 | 0,5 | 0,5 | rot |
| 5 | 0,5 | 8,5 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 6 | 0,6 | 8,4 | 0,5 | 0,5 | rotbraun |
| 7 | 0,7 | 8,3 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 8 | 0,8 | 8,2 | 0,5 | 0,5 | braun |
| 9 | 0,9 | 8,1 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 10 | 1,0 | 8,0 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 11 | Kontrolle | 9,5 | — | 0,5 | dunkelblau |
| 12 | „ | 9,0 | 0,5 | 0,5 | rotviolett |

*Resultat:* Chlorcalcium aktiviert die Kartoffelamylase. Vergleich mit Tabelle I.

[1]) l. c.

**2. Einfluß der Aminosäuren auf die amylatische Kraft des Kartoffelsaftes.**

Außer den anorganischen Enzymkatalysatoren kennen wir auch solche organischer Natur, und unter diesen spielen die Aminosäuren eine gewisse Rolle. Da im Kartoffelsaft reichliche Mengen von solchen Stoffen angetroffen werden und nach den Untersuchungen des einen[1]) von uns die Zunahme an Aminosäuren in den Knollen mit dem Anwachsen der amylatischen Kraft parallel geht, so war vermutet worden, ob nicht diese Stoffklasse auf die Amylase aktivierend wirken könne. Für andere Amylasen sind solche Versuche längst durchgeführt, jedoch mit zum Teil widersprechenden Resultaten, so daß weitere Aufklärung nötig ist.

*J. Wohlgemuth*[2]) fand, daß Alanin und Leucin die Speicheldiastase hemmen, während *Ford* und *Guthrie*[3]) mit Aminosäuren teilweise eine Aktivierung, die sie der neutralisierenden Wirkung des Ampholyten zuschreiben, beobachteten. Neuere Untersuchungen von *H. C. Sherman* und *Fl. Walker*[4]) ergaben auch eine günstige Wirkung verschiedener Aminosäuren (Glycin, Alanin, Phenylalanin und Tyrosin) bei Pankreas- und Speichelamylase.

Wir prüften Glykokoll, Alanin und l-Leucin auf ihre aktivierenden Eigenschaften und hatten auch positive Erfolge. Von den drei genannten Säuren wirkt die erste am stärksten, die letzte am schwächsten. Immerhin zeigt diese Säure noch eine kräftige Reaktion (Tabelle V, VI, und VII). Bemerkenswert ist, daß die zweibasischen Säuren Asparaginsäure und Glutaminsäure den Prozeß negativ beeinflußten. Versuche über die Art der Wirkung wurden noch nicht ausgeführt.

*Tabelle V.*

Einfluß von Glykokoll auf die amylatische Kraft von Kartoffelpreßsaft.

| Nr. | Frischer Preßsaft (im Juni) ccm | Zusatz von Wasser ccm | n/10 Glykokolllösung ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 2 Stunden bei 37° Verfärbung mit Jodlösung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 8,9 | 0,5 | 0,5 | braun |
| 2 | 0,2 | 8,8 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 3 | 0,3 | 8,7 | 0,5 | 0,5 | hellbraungelb |
| 4 | 0,4 | 8,6 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 5 | 0,5 | 8,5 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 6 | 0,6 | 8,4 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 7 | 0,7 | 8,3 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 8 | 0,8 | 8,2 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 9 | 0,9 | 8,1 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 10 | 1,0 | 8,0 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 11 | 1,0 | 8,5 | — | 0,5 | rotviolett |
| 12 | Kontrolle | 9,0 | 0,5 | 0,5 | dunkelblau |

*Resultat:* Glykokoll aktiviert die Kartoffelamylase.

[1]) *H. Haehn*, diese Zeitschr. **100**, 114, 1919.

[2]) *J. Wohlgemuth*, ebendaselbst **9**, 30, 1908.

[3]) *Ford* und *Guthrie*, Journ. Chem. Soc. 1906.

[4]) *H. C. Sherman* und *Fl. Walker*, Amer. Journ. Chem. Soc. **43**, 2461. 1921.

*Tabelle VI.*

Einfluß von Alanin auf die amylatische Kraft von Kartoffelpreßsaft.

| Nr. | Frischer Preßsaft (im Juni) ccm | Zusatz von Wasser ccm | n/10 Alaninlösung ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 2 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 8,9 | 0,5 | 0,5 | braunrot |
| 2 | 0,2 | 8,8 | 0,5 | 0,5 | " |
| 3 | 0,3 | 8,7 | 0,5 | 0,5 | braun |
| 4 | 0,4 | 8,6 | 0,5 | 0,5 | hellbraun |
| 5 | 0,5 | 8,5 | 0,5 | 0,5 | hellbraungelb |
| 6 | 0,6 | 8,4 | 0,5 | 0,5 | " |
| 7 | 0,7 | 8,3 | 0,5 | 0,5 | " |
| 8 | 0,8 | 8,2 | 0,5 | 0,5 | " |
| 9 | 0,9 | 8,1 | 0,5 | 0,5 | " |
| 10 | 1,0 | 8,0 | 0,5 | 0,5 | " |
| 11 | 1,0 | 8,5 | — | 0,5 | rotviolett |
| 12 | Kontrolle | 9,0 | 0,5 | 0,5 | dunkelblau |

*Resultat:* Alanin aktiviert die Kartoffelamylase.

*Tabelle VII.*

Einfluß von l-Leucin auf die amylatische Kraft von Kartoffelpreßsaft.

| Nr. | Frischer Preßsaft (im Juni) ccm | Zusatz von Wasser ccm | n/10 l-Leucinlösung ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 2 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 8,9 | 0,5 | 0,5 | rot |
| 2 | 0,2 | 8,8 | 0,5 | 0,5 | " |
| 3 | 0,3 | 8,7 | 0,5 | 0,5 | rotbraun |
| 4 | 0,4 | 8,6 | 0,5 | 0,5 | braun |
| 5 | 0,5 | 8,5 | 0,5 | 0,5 | " |
| 6 | 0,6 | 8,4 | 0,5 | 0,5 | braungelb |
| 7 | 0,7 | 8,3 | 0,5 | 0,5 | hellbraungelb |
| 8 | 0,8 | 8,2 | 0,5 | 0,5 | " |
| 9 | 0,9 | 8,1 | 0,5 | 0,5 | " |
| 10 | 1,0 | 8,0 | 0,5 | 0,5 | " |
| 11 | 1,0 | 8,5 | — | 0,5 | rotviolett |
| 12 | Kontrolle | 9,0 | 0,5 | 0,5 | dunkelblau |

*Resultat:* Leucin aktiviert die Kartoffelamylase.

Durch diese aufgefundenen Tatsachen läßt sich vielleicht das Resultat *Dobys*[1]), daß proteolytische Enzyme einen günstigen Einfluß auf die diastatische Kraft des Kartoffelsaftes haben, auf einfache Art erklären. Im Lichte unserer neuen Befunde könnte es scheinen, daß die bei der Proteolyse gebildeten Aminosäuren die Aktivatoren sind.

### 3. Zerlegung der Kartoffelamylase in eine organische Komponente und in Neutralsalze.

Auf die allgemeine Bedeutung der Neutralsalze für die Wirkung der Amylase wurde bereits im ersten Teile hingewiesen. Durch die Arbeiten von *H. Bierry*[2]) in Gemeinschaft mit *Giaja* und *V. Henri* über die Unter-

[1]) l. c.

[2]) *H. Bierry*, Journ. of Physiol. **80**, 202, 1904; diese Zeitschr. **40**, 357, 1912.

suchung des Pankreassaftes eines Hundes, bei der man eine durch Dialyse unwirksam gewordene, durch Chlornatriumzusatz jedoch wieder aktivierbare Amylase erhielt, wurde die Aufmerksamkeit vieler Forscher von neuem auf die Bedeutung der anorganischen Salze hingewiesen[1]). *Fränkel*[2]) und *Hamburg* fanden bei ihren Untersuchungen über *Pflanzendiastase*, daß dieselbe schon nach 12stündiger Dialyse ihre Wirkungen vollständig oder doch zum Teil einbüßt. Auch *E. Starkenstein*[3]) beobachtete, „daß zwischen tierischen und pflanzlichen Diastasen hinsichtlich ihrer Beziehung zu Neutralsalzen kein Unterschied besteht", was von *Bierry* u. a. angezweifelt wurde. *Starkenstein* dialysierte eine Lösung von *Pflanzendiastase*, wobei eine *vollständige* Inaktivierung zwar *nicht erfolgte*, jedoch eine deutlich hemmende Wirkung der Dialyse und der fördernde Einfluß des Kochsalzes beobachtet wurde. Auch aus den Versuchen *Wohlgemuths*[4]) ist nicht zu ersehen, ob sein „salzfreier Speichel" völlig frei von mineralischen Salzen gewesen ist. Ebenfalls eine spätere Angabe *Starkensteins*[5]), wonach es gelingt, durch Dialyse von *Leberpulvern* oder Organplasmen die darin enthaltene Diastase *ganz restlos* zu inaktivieren, läßt darüber Zweifel aufkommen. Auch *L. Michaelis* und *Pechstein*[6]) bemühten sich vergebens, „salzfreien Speichel" herzustellen. Er war „niemals absolut wirkungslos". Sie betrachten es als ziemlich sicher, „daß dieser letzte Rest von Wirkung auf den allerletzten, bei der Dialyse nicht entfernten Salzspuren beruht". Glücklicher war *W. Biedermann*[7]) mit seinen Forschungen über Speichelamylase. Er benutzte die Adsorptionskraft des Glases zur Diastase, indem er den Speichel mehrere Stunden lang in einem Reagenzglase stehen ließ, dann den Inhalt entleerte und zwei- bis dreimal mit reinem Wasser ausspülte. Es bleibt dann so viel Amylase am Glase haften, daß in einer halben bis einer Stunde Spaltstücke einer zugefügten Stärkelösung nachgewiesen werden können, wenn mit Salzen aktiviert worden war. Kam jedoch salzfreie Stärkelösung in das Reagenzglas, so erfolgte selbst nach vielen Stunden keine merkliche Spaltung der Amylase. Obschon ja keine absolute Salzfreiheit zu erreichen war, so gestatten die Versuche dennoch den Schluß, daß Speicheldiastase nur bei Gegenwart von gewissen Salzen wirksam ist und nur durch diese aktiviert werden kann.

Wenn es durch die erwähnten Untersuchungen auch in hohem Grade wahrscheinlich gemacht wird, daß wenigstens Amylasen tierischer Herkunft in wirklich salzfreien Lösungen absolut unwirksam sind, so war es doch wünschenswert, eine Prüfung im Hinblick auf die widersprechenden Angaben bezüglich der Phytoamylasen vorzunehmen, um gleichzeitig die von *Bierry* errichtete Schranke zwischen tierischen und pflanzlichen Amylasen endgültig wegzuräumen.

---

[1]) Ausführliche Literatur bei *W. Biedermann*, Fermentforschung **4**, 259, 1921.

[2]) *Fränkel* und *Hamburg*, Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Path. 8, 389, 1906.

[3]) *E. Starkenstein*, diese Zeitschr. **47**. 304, 1912.

[4]) *Wohlgemuth*, ebendaselbst **9**, 30, 1908.

[5]) *E. Starkenstein*, ebendaselbst **47**, 300, 1912; **24**, 210, 1910.

[6]) *L. Michaelis* und *Pechstein*, ebendaselbst **59**, 86, 1914.

[7]) *W. Biedermann*, Fermentforschung **4**, 262.

*Dialyse der Kartoffelamylase.*

Es wurde nun zunächst versucht, die Kartoffelamylase durch Dialyse von ihren Salzen mit Hilfe eines sogenannten Fischblasenkondoms zu befreien.

50 ccm frischen Kartoffelpreßsaftes wurden 10 Tage lang gegen 1500 ccm täglich zweimal erneutes Wasser dialysiert. Als Antiseptikum wurde Thymol zugegeben. Nach kurzer Zeit beobachtet man an der Spitze des Beutels dicke Salzschlieren herabfallen und allmählich geht auch die rote Form des Melanins des Preßsaftes in das Dialysat, was sich später infolge der Melaninaggregation dunkelbraun färbt. Nach wenigen Tagen bleibt das Dialysat scheinbar unverändert, doch nimmt es immer noch geringe Salzmengen auf. Am zehnten Tage ist es praktisch salzfrei und kann dann nach der *Wohlgemuth*schen Methode untersucht werden. Von den zahlreichen Experimenten sei nur eins in Tabelle VIII näher beschrieben. Wir sehen zunächst in Versuchen 1 bis 6, daß der Preßsaftrückstand in der Blase, der sein Volumen durch Wasseraufnahme etwas vergrößert hatte, seine verzuckernde Kraft fast ganz verloren hat. Selbst ein Zusatz von 1 ccm Saft zu nur 0,5 ccm 1 proz. Stärkelösung vermochte in 20 Stunden bei 37° nur einen violettroten Farbenton hervorzurufen. Wurde jedoch der Saft mit n/10 KCl-Lösung versetzt, so erfolgte wieder kräftiger Abbau bis zum Dextrin (Nr. 7 bis 10). Von den ausprobierten Salzen war das Bariumchlorid (Handelsmarke) das kräftigste, etwas schwächer wirkten das Chlorkalium, Chlorcalcium und Chlormagnesium. Die Schwermetalle waren hier unwirksam im Gegensatz zu den Tyrosinaseversuchen[1]), bei denen gerade Zink, Cadmium und Nickel am kräftigsten aktivierten. *Wir kommen hier zu dem Ergebnis, daß das Dialyseverfahren zwar den allergrößten Teil der Salze entfernt, die Amylase jedoch nicht vollkommen unwirksam macht.*

*Ultrafiltration der Kartoffelamylase.*

Versuche, mit Hilfe des *Bechhold*schen Ultrafilters die Kartoffelamylase vollkommen salzfrei zu machen, scheiterten ebenfalls. Es kamen die verschiedensten Filtersorten zur Anwendung, doch erzielten wir nur mit dem 6 proz. Eisessigkollodiumfilter ein Präparat, das etwa der Güte der dialysierten Amylase entsprach. 25 ccm frischen Kartoffelpreßsaftes (Juni) wurden bei einem Druck von 6 bis 8 Atm. ultrafiltriert. Der pechschwarze Rückstand wird mehrere Male zwecks Auswaschens mit destilliertem Wasser aufgenommen und wieder ultrafiltriert. Endlich wird die Suspension nach der *Wohlgemuth*schen Methode geprüft. Tabelle IX gibt uns das Ergebnis wieder. Wir beobachten in fast allen Experimenten einen sehr geringen Abbau der Stärke, wenn das Amylasepräparat 20 Stunden bei 37° auf 0,5 ccm 1 proz. Stärkelösung einwirkt.

[1]) *H. Haehn*, diese Zeitschr. **105**, 180, 1920.

*Tabelle VIII.* Dialyse von Kartoffelpreßsaft.

Preßsaft nach zehntägiger Dialyse bei Gegenwart von Thymol auf amylatische Kraft geprüft. Ansatz wie bei den früheren Versuchen.

| Nr. | Preßsaft 10 Tage dyalisiert ccm | Zusatz von Wasser ccm | n/10 KCl-Lösung ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 20 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,5 | 9,0 | — | 0,5 | violettblau |
| 2 | 0,6 | 8,9 | — | 0,5 | „ |
| 3 | 0,7 | 8,8 | — | 0,5 | violett |
| 4 | 0,8 | 8,7 | — | 0,5 | „ |
| 5 | 0,9 | 8,6 | — | 0,5 | violettrot |
| 6 | 1,0 | 8,5 | — | 0,5 | „ |
| 7 | 0,7 | 8,3 | 0,5 | 0,5 | rotbraun |
| 8 | 0,8 | 8,2 | 0,5 | 0,5 | hellbraun |
| 9 | 0,9 | 8,1 | 0,5 | 0,5 | gelb |
| 10 | 1,0 | 8,0 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 11 | Kontrolle | 9,5 | — | 0,5 | dunkelblau |
| 12 | „ | 9,0 | 0,5 | 0,5 | rotbraun |

*Resultat:* Durch Dialyse wird die Amylase infolge Salzverlustes stark geschwächt. Zusatz von KCl ruft wieder energischen Stärkeabbau hervor.

*Tabelle IX.* Ultrafiltration des Kartoffelpreßsaftes.

25 ccm wurden mit Hilfe des *Bechhold*schen Ultrafiltrierapparates durch ein Eisessigkollodiumfilter von 6 Proz. Gehalt bei etwa 6 Atm. Druck filtriert.

| Nr. | Ultrafiltratrückstand 6proz. Filter ccm | Zusatz von Wasser ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 20 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 9,4 | 0,5 | dunkelblau |
| 2 | 0,2 | 9,3 | 0,5 | violett |
| 3 | 0,3 | 9,2 | 0,5 | „ |
| 4 | 0,4 | 9,1 | 0,5 | „ |
| 5 | 0,5 | 9,0 | 0,5 | „ |
| 6 | 0,6 | 8,9 | 0,5 | „ |
| 7 | 0,7 | 8,8 | 0,5 | violettrot |
| 8 | 0,8 | 8,7 | 0,5 | rotviolett |
| 9 | 0,9 | 8,6 | 0,5 | „ |
| 10 | 1,0 | 8,5 | 0,5 | „ |
| 11 | Kontrolle | 9,5 | 0,5 | dunkelblau |

*Resultat:* Durch Ultrafiltration kann die Amylase nicht vollständig entsalzt, also unwirksam gemacht werden.

*Es resultiert, daß die Trennung der organischen Komponente der Amylase von den Salzen durch Ultrafiltration nicht quantitativ ausgeführt werden kann.*

*Trennung der Kartoffelamylase in eine inaktive organische Komponente und in Neutralsalze durch Dialyse mit anschließender Ultrafiltration.*

Es gelang nun, durch Kombination des Dialyseverfahrens mit der Ultrafiltration einen salzfreien Rückstand zu erhalten. Eine zehntägige Dialyse mit darauffolgender Ultrafiltration durch ein 6proz. *Bechhold*sches, mit Eisessigkollodium getränktes Filter bei 6 bis 8 Atm.

Druck zerlegte in der Tat den Preßsaft in eine inaktive organische Komponente und in Neutralsalze. Die Versuche wurden genau so ausgeführt, wie sie oben beschrieben worden waren. Die Prüfung des Ultrafiltratrückstandes auf amylatische Kraft geschah in der üblichen Weise. Tabelle X zeigt uns in den Versuchen 1 bis 5 die völlige Unwirksamkeit des Amylasepräparates *nach einer Einwirkungsdauer von 20 Stunden bei 37°*. Wird mit Chlornatrium aktiviert, so erfolgt wieder energischer Stärkeabbau (Nr. 6 bis 10). Trotz der intensiven, lang andauernden Eingriffe auf das Enzymsystem hat die organische Komponente relativ wenig von ihrer ursprünglichen Kraft verloren. *Es ist also gelungen, die Kartoffelamylase in salzfreiem, also unwirksamem Zustande herzustellen ohne ihre Haupteigenschaft, sich durch Neutralsalze aktivieren zu lassen, zu verlieren. Somit besteht in dieser Beziehung kein Unterschied zwischen tierischer und pflanzlicher Amylase.*

Ein *absolut* salzfreies Präparat, also *frei von jeder mineralischen Spur*, scheint nicht vorzuliegen, da die Kontrollen (Tabelle X, 2 bis 5) noch einen Stich nach Violett gaben, allerdings erst nach 20stündiger Einwirkung des Präparats. Unsere Diastase wird etwa den Reinheitsgrad in bezug auf Salzgehalt haben, wie die erwähnten Präparate von *Michaelis* und *Biedermann*.

Alle Versuche über Amylase tierischer oder pflanzlicher Herkunft haben gezeigt, wie schwierig es ist, eine restlose Trennung der organischen Komponente von den anorganischen Salzen durchzuführen. Das liegt in der Hauptsache an der Empfindlichkeit des Zymogens gegenüber den Aktivatoren. Es genügen geradezu *nur kleinste Spuren eines Salzes*, um die Tätigkeit der organischen Komponente anzuregen. Vielleicht wirkt hierbei auch das Alkali des Glases mit. Diese Tatsache ist der Chemie der Katalyse ja nicht befremdlich. Erinnert sei auch an die Vergiftungsversuche *Senters*, bei denen bereits 0,00135 mg Blausäure genügten, um die Katalasewirkung des Blutes zu hemmen.

Bei der entsalzten Tyrosinase[1]) waren nur 0,08 mg Chlorcalcium notwendig, um schon in einer Viertelstunde 5 ccm einer Tyrosinlösung durch 0,2 ccm organischer Komponente zu röten. Die Ergebnisse aller Forscher auf diesem Gebiete, insbesondere die von *Michaelis*[2]) und *Biedermann*[3]), und unsere neuen Resultate der Kartoffelamylase bringen uns zu der Überzeugung, daß *alle Amylasen der Zellen aus einem organischen und einem* **unentbehrlichen** *anorganischen Teil bestehen.* Die intensive Wirkung der Salzspuren läßt auf die große Bedeutung der mineralischen Bestandteile schließen, die nach unserer Auffassung bei der Amylase wichtiger oder wenigstens ebenso wichtig sind als die organischen Stoffe[4]). Versuche mit chemisch reinen Präparaten müssen hier den Beweis bringen.

---

[1]) *H. Haehn*, diese Zeitschr. **105**, 182, 1920.
[2]) *L. Michaelis* und *H. Pechstein*, ebendaselbst **59**, 99, 1914.
[3]) *W. Biedermann*, Fermentforschung **4**, 258, 1921.
[4]) *H. Haehn*, diese Zeitschr. **135**, 587, 1923.

*Tabelle X.*

Trennung der Kartoffelamylase in eine inaktive organische Komponente und in Neutralsalze durch Dialyse mit anschließender Ultrafiltration.

50 ccm frischer Kartoffelpreßsaft (Juni), 10 Tage bei Gegenwart von Thymol dialysiert, Blasenrückstand durch ein 6proz. *Bechhold*sches Eisessigkollodiumfilter bei etwa 6 Atm. Druck ultrafiltriert.

| Nr. | Dialysat ultrafiltriert ccm | Zusatz von Wasser ccm | n/10 NaCl-Lösung ccm | 1 proz. Stärkelösung ccm | Nach 20 Stunden bei 37° Verfärbung auf Zusatz von Jodlösung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,5 | 9,0 | — | 0,5 | blau |
| 2 | 0,6 | 8,9 | — | 0,5 | blau, mit geringem Stich nach Violett |
| 3 | 0,7 | 8,8 | — | 0,5 | blau, mit geringem Stich nach Violett |
| 4 | 0,8 | 8,7 | — | 0,5 | blau, mit geringem Stich nach Violett |
| 5 | 0,9 | 8,6 | — | 0,5 | blau, mit geringem Stich nach Violett |
| 6 | 0,5 | 8,5 | 0,5 | 0,5 | rot |
| 7 | 0,6 | 8,4 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 8 | 0,7 | 8,3 | 0,5 | 0,5 | rotbraun |
| 9 | 0,8 | 8,2 | 0,5 | 0,5 | „ |
| 10 | 0,9 | 8,1 | 0,5 | 0,5 | braun |
| 11 | Kontrolle | 9,0 | 0,5 | 0,5 | violettrot |
| 12 | „ | 9,5 | — | 0,5 | dunkelblau |

*Resultat:* Bei Anwendung des Dialyseverfahrens und der Ultrafiltration gelingt es, die Amylase in die organische Komponente und in die Neutralsalze zu zerlegen.

Die oben beschriebenen Trennungsversuche führten, wie früher[1]) mitgeteilt wurde, zu dem Resultat, daß man mit Hilfe von Neutralsalzen allein schon Stärke abbauen kann. Auch wurde beobachtet, daß diese Salzhydrolyse durch Zugabe von Aminosäuren und Pepton beträchtlich verstärkt werden kann. Aus diesen Tatsachen heraus erklärt sich auch in der vorliegenden Arbeit noch manches, z. B. die Rötungen der Kontrollversuche, aus Stärkelösung und Neutralsalz bestehend, wie in Nr. 12 auf Tabelle VIII. In Anbetracht dieser Ergebnisse erscheint es etwas zweifelhaft, ob die Aktivierungen der normalen, nicht zerlegten Amylase (Teile 1 und 2 der Arbeit) durch die Neutralsalze und Aminosäuren *echte* Aktivierungen sind. Es könnte sich hier auch um den anderen Verzuckerungsprozeß[1]) handeln, um einen Parallelvorgang, der das Ergebnis der Haupthydrolyse vergrößert. Diese Frage konnte durch die ausgeführte Versuchsanordnung nicht entschieden werden.

---

[1]) *H. Haehn*, diese Zeitschr. 135, 587, 1923.

# Acetonurie und Acidose.

Von

**D. Adlersberg.**

(Aus der I. medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

*(Eingegangen am 13. Oktober 1923.)*

In den letzten Jahren ist durch verschiedene Autoren dargetan worden, daß eine Alkalose, wie sie durch Darreichung großer Mengen von Natrium bicarbon., ferner willkürliche oder unwillkürliche Überventilation hervorgerufen wird, die Bildung saurer intermediärer Stoffwechselprodukte nach sich zieht.

So konnten *Macleod* und *Knapp* zeigen, daß Zufuhr von Natrium bicarbon. die Ausscheidung von Milchsäure verursacht. *Davies, Haldane* und *Kennaway* fanden, daß eine durch willkürliche Überventilation infolge Verarmung des Blutes an Kohlensäure hervorgerufene Alkalose mitunter zu Acetonvermehrung im Harn führt. *Porges* sowie *Porges* und *Lipschütz* berichten über Fälle mit neurotisch bedingter unwillkürlicher Überventilation, bei denen schon nach wenigen Stunden der Kohlehydratabstinenz eine beträchtliche Acetonurie sich einstellte, während in der Norm erst am zweiten Tage der Kohlehydratabstinenz Acetonurie aufzutreten pflegt. Ferner konnten *Porges* und *Lipschütz* zeigen, daß auch eine durch Verabreichung von Natrium bicarbon. erzeugte Alkalose die Neigung zur Acetonurie steigert. Alle erwähnten Autoren erklären das Bestehenbleiben bzw. die Bildung dieser sauren Produkte als Regulationsmechanismus zur Beseitigung der Alkalose derart, daß die Milchsäure bzw. Acetessigsäure durch den Überschuß an alkalischen Valenzen der weiteren Oxydation entzogen werden.

Angesichts dieser Tatsachen war es für uns von Interesse, Untersuchungen über den Einfluß einer künstlichen *Acidose* auf die Acetonurie normaler Menschen nach Kohlehydratabstinenz und Kranker mit Diabetes mellitus anzustellen. Eine künstliche Acidose läßt sich durch Zufuhr von Ammonsalzen von Mineralsäuren erzeugen. Das zuerst von *Porges, Leimdörfer* und *Markovici*, in jüngerer Zeit von *Haldane, Freudenberg* und *György* verwendete Ammonchlorid ist für diesen Zweck weniger geeignet, als das zuerst von *Porges* und *Adlersberg* verwendete saure Ammonphosphat $(NH_4)H_2PO_4$, das in isotonischer Lösung gut vertragen und resorbiert wird. Das Ammonphosphat (A. Ph.) setzt sich im Blute mit dem Natrium bicarbon. zu Ammoncarbonat und Mononatriumphosphat um, das Ammoncarbonat wird zu Harnstoff. Durch diese Bindung des Natrium bicarbon. werden dem Blute alkalische Valenzen entzogen. Die Aciditätsvermehrung des

Blutes führt zu gesteigerter Atmung, zu einer Mehrabgabe von Kohlensäure, wodurch die Kohlensäurespannung des Blutes herabgesetzt und das normale Verhältnis zwischen Kohlensäure und Alkalireserve wieder hergestellt wird (Kompensation der Acidose). Wir verwenden gewöhnlich 18 g der Substanz pro Tag, lösen sie in einem Liter Wasser und setzen der Lösung Geschmackskorrigenzien, wie Zucker, Himbeersaft, zu. Die Vermehrung der Atmung ist schon am ersten Tage, noch mehr aber am zweiten und dritten Tage der Darreichung aus dem Absinken der Kohlensäurespannung der Alveolarluft einwandfrei zu erkennen, denn, je intensiver die Atmung, desto besser die Blutlüftung, was ceteris paribus zu einer Herabsetzung der Kohlensäurespannung des Blutes und somit auch der mit dem Blute im Spannungsgleichgewicht stehenden Alveolarluft führen muß.

Bei den untersuchten *zwei Normalfällen* wurde nach einem längeren Zeitraum gemischter kohlehydratreicher Kost durch einige Tage eine sogenannte strenge Diabeteskost, die praktisch kohlehydratfrei ist, verabreicht. Nach einer Vorperiode von 4 Tagen wurde dann A.Ph. verabreicht, und zwar im ersten Falle durch 2, im zweiten Falle durch 4 Tage, und dieser Hauptperiode eine kurze Nachperiode angeschlossen. Während der Versuchsdauer wurde der Harn genau 24stündig gesammelt, und in einer Probe dieser Menge wurde das Gesamtaceton nach *Messinger-Huppert* in Doppelanalysen bestimmt. Der Zuckergehalt wurde polarimetrisch ermittelt. Bei den untersuchten *zwei Fällen von Diabetes mellitus* verabreichten wir das A.Ph. durch einige Tage, während einer längeren Periode strenger kohlehydratfreier Kost, wobei die täglich ausgeschiedene Acetonmenge einigermaßen konstant war. Beim Fall 3 führten wir einen weiteren Versuch bei Kohlehydratkost (s. Tabelle IV) aus. In drei Versuchen wurde außerdem die Kohlensäurespannung der geschlossenen Alveolarluft nach der *Plesch-Porges*schen Methode bestimmt. Die Versuchsresultate bringen Tabelle I bis V.

*Tabelle I.*

Fall 1. *Marie F.*, 66 Jahre, Normalfall.

| Tag | Harn: Menge | Harn: Spez. Gewicht | Gesamtaceton im Harn in g | |
|---|---|---|---|---|
| 24. II. 1923 | 2200 | 1013 | — | Kohlehydratfreie Kost |
| 25. II. | 2050 | 1015 | 0,048 | „ |
| 26. II. | 2100 | 1014 | 0,082 | „ |
| 27. II. | 2150 | 1017 | 0,158 | „ |
| 28. II. | 1900 | 1019 | 0,027 | „ 1. Tag 18 g $(NH_4)H_2PO_4$ |
| 1. III. | 1800 | 1016 | 0,078 | „ 2. „ 18 g „ |
| 2. III. | 1200 | 1017 | 0,228 | „ |
| Durchschnittswert der Vorperiode . . . . | | | 0,096 | |
| „ „ Hauptperiode . . . | | | 0,052 | |
| „ „ Nachperiode . . . | | | 0,228 | |

*Tabelle II.*

Fall 2. *Karl M.*, 23 Jahre, Normalfall.

| Tag | Harn Menge | Harn Spez. Gewicht | Gesamtaceton im Harn in g | $CO_2$-Spannung d. Alveolarluft (gegen 9h v. m. untersucht) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 22. III. 1923 | 1600 | 1024 | — | — | Kohlehydratfreie Kost | |
| 23. III. | 2000 | 1020 | 0,086 | — | „ | |
| 24. III. | 2400 | 1020 | 0,240 | — | „ | |
| 25. III. | 1800 | 1022 | 0,259 | 6,42 | „ | |
| 26. III. | 2100 | 1022 | 0,378 | 6,30 | „ | 1. Tag 18 g $(NH_4)H_2PO_4$ |
| 27. III. | 2300 | 1023 | 0,299 | 6,07 | „ | 2. „ 18 g „ |
| 28. III. | 3050 | 1021 | 0,296 | 6,16 | „ | 3. „ 30 g „ |
| 29. III. | 1500 | 1023 | 0,315 | 5,56 | „ | 4. „ 18 g „ |
| 30. III. | 2200 | 1022 | 0,506 | 5,68 | „ | |
| 31. III. | 1200 | 1024 | 0,420 | 6,34 | „ | |
| Durchschnittswert der | | | | | | |
| Vorperiode (24. u. 25. III.) | | | 0,249 | — | | |
| Hauptperiode . . . . . | | | 0,322 | — | | |
| Nachperiode . . . . . | | | 0,463 | — | | |

Wir sehen, daß bei Fall 1 während der Hauptperiode die Acetonurie wesentlich geringer wird, und daß sie dann nach Aussetzen der A. Ph.-Zufuhr auf mehr als das Vierfache des Durchschnittswertes der A. Ph.-Periode ansteigt. Bei Fall 2 bewirkt die Darreichung von A. Ph. zwar keine Herabsetzung der Acetonurie, jedoch sehen wir bei Aussetzen der A. Ph.-Zufuhr (Nachperiode) die Acetonurie sofort beträchtlich ansteigen. Der Durchschnittswert der zwei letzten Tage der Vorperiode beträgt 0,249 g Gesamtaceton, der viertägigen Hauptperiode 0,322 g. Die Nachperiode zeigt einen Mittelwert von 0,463 g. Während de norma bei Kohlehydratabstinenz die tägliche Acetonausscheidung durch den Harn allmählich ansteigt, um schließlich auf einer gewissen Höhe zu verharren, sehen wir in unserem Falle nach Aussetzen der A. Ph.-Zufuhr einen *plötzlichen* Anstieg der Ausscheidungskurve. Daraus läßt sich wohl schließen, daß auch in diesem Falle das A. Ph. während der Darreichung die Kurve gedrückt hat.

Auch bei den Diabetesfällen ist der hemmende Einfluß der A. Ph.-Acidose deutlich wahrnehmbar. Die Durchschnittswerte der Hauptperioden während der A. Ph.-Darreichung sind wesentlich tiefer als die Durchschnittswerte der Vor- bzw. Nachperioden, während deren dieselbe Kost aber ohne A. Ph. gegeben wurde. Somit ist bewiesen, daß die künstliche Acidose die Acetonurie sowohl des normalen Menschen nach Kohlehydratabstinenz als auch des ketonurischen Diabetikers hemmt. Allerdings ist nur die Acetonausscheidung mit dem Harn, nicht die mit der Expirationsluft untersucht worden.

*Tabelle III.*

Fall 3. *Anton K.*, 31 Jahre, mittelschwerer Fall von Diabetes mellitus.

| Tag | Harn Menge | Harn Spez. Gewicht | Harnzucker in g | Gesamtaceton im Harn in g | $CO_2$-Spannung d. Alveolarluft (gegen 9h v. m. untersucht) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Strenge Diät (seit 6 Tagen) |
| 29. I. 1923 | 2400 | 1023 | 45,6 | 0,840 | 5,81 | „ 1. Tag 18 g $(NH_4)H_2PO_4$ |
| 30. I. | 2200 | 1030 | 46,2 | 0,783 | 5,30 | „ 2. „ 18 g „ |
| 31. I. | 2300 | 1022 | 44,7 | 0,623 | 5,41 | „ 3. „ 18 g „ |
| 1. II. | 2300 | 1026 | 46,0 | 0,872 | 5,50 | „ 4. „ 18 g „ |
| 2. II. | 2200 | 1030 | 44,0 | 1,364 | 6,15 | „ |
| 3. II. | 2400 | 1030 | 56,6 | 0,984 | 5,91 | „ |
| 4. II. | 2250 | 1031 | 54,2 | 0,787 | — | „ |
| 5. II. | 2400 | 1025 | 45,6 | 1,188 | 6,54 | „ |
| 6. II. | 2350 | 1030 | 49,3 | 1,591 | — | „ |
| Durchschnittswert der Vorperiode | | | — | — | — | |
| Hauptperiode | | | **45,6** | **0,779** | — | |
| Nachperiode | | | **49,9** | **1,183** | — | |

*Tabelle IV.*

Fall 3. *Anton K.*, 31 Jahre, mittelschwerer Fall von Diabetes mellitus.

| Tag | Harn Menge | Harn Spez. Gewicht | Harnzucker in g | Gesamtaceton im Harn in g | $CO_2$-Spannung d. Alveolarluft (gegen 9h v. m. untersucht) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 10. II. 1923 | 2000 | 1034 | 100,0 | 0,206 | — | Kohlehydratkost (seit 4 Tagen): 50 g Gries, 50 g Reis, 50 g Haferflocken, 200 g Kartoffeln, 50 g Fett, 100 g Kognak |
| 11. II. | 2000 | 1032 | 94,0 | 0,206 | — | „ |
| 12. II. | 2500 | 1031 | 120,0 | 0,242 | — | „ 1. Tag 18 g $(NH_4)H_2PO_4$ |
| 13. II. | 2100 | 1030 | 109,2 | 0,122 | — | „ 2. „ 18 g „ |
| 14. II. | 2300 | 1030 | 115,0 | 0,053 | — | „ 3. „ 18 g „ |
| 15. II. | 2200 | 1032 | 112,2 | 0,119 | — | „ 4. „ 18 g „ |
| 16. II. | 2050 | 1032 | 120,0 | 0,072 | — | „ 5. „ 18 g „ |
| 17. II. | 1500 | 1038 | 90,0 | 0,150 | — | „ |
| 18. II. | 2000 | 1034 | 118,0 | 0,162 | — | „ |
| 19. II. | 2200 | 1034 | 112,2 | 0,456 | — | „ Fettzulage von 100 g |
| 20. II. | 2050 | 1032 | 100,0 | 0,238 | — | „ |
| Durchschnittswert der Vorperiode | | | **97,0** | **0,206** | — | |
| Hauptperiode | | | **115,3** | **0,122** | — | |
| zweitäg. Nachperiode | | | **104,0** | **0,156** | — | |
| viertäg. Nachperiode | | | **105,0** | **0,251** | — | |

Nun bewirkt die A. Ph.-Darreichung, wie oben ausgeführt wurde, eine vermehrte Lungenventilation, die ja zu einer Mehrabgabe von

*Tabelle V.*

Fall 4. *Franz Ku.*, 36 Jahre, mittelschwerer Fall von Diabetes mellitus.

| Tag | Harn Menge | Harn Spez. Gewicht | Harnzucker in g | Gesamtaceton im Harn in g | $CO_2$-Spannung d. Alveolarluft (gegen 9h v. m. untersucht) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 12. VI. 1923 | 2100 | 1021 | 18,48 | 0,315 | — | Strenge Diät (seit 14 Tagen) | |
| 13. VI. | 2900 | 1018 | 15,6 | 0,220 | — | „ | |
| 14. VI. | 3150 | 1016 | 17,3 | — | — | „ | |
| 15. VI. | 1700 | 1021 | 3,7 | 0,263 | — | „ | |
| 16. VI. | 3600 | 1012 | 8,0 | 0,486 | — | „ | |
| 17. VI. | 2800 | 1018 | 9,2 | 0,280 | — | „ | |
| 18. VI. | 2600 | 1015 | 7,9 | 0,572 | — | „ | |
| 19. VI. | 4800 | 1012 | 10,5 | 0,186 | 5,98 | „ | 1. Tag 18 g $(NH_4)H_2PO_4$ |
| 20. VI. | 2900 | 1010 | 0 | 0,224 | 5,84 | „ | 2. „ 27 g „ |
| 21. VI. | 5250 | 1013 | 0 | 0,105 | 5,65 | „ | 3. „ 18 g „ |
| 22. VI. | 2600 | 1015 | 5,3 | 0,101 | 5,70 | „ | 4. „ 18 g „ |
| 23. VI. | 2950 | 1020 | 6,5 | 0,389 | 5,45 | „ | |
| 24. VI. | 1800? | ? | ? | ? | — | „ | |
| 25. VI. | 1400 | 1025 | 13,8 | 0,350 | 5,90 | „ | |
| Durchschnittswert der Vorperiode . . | | | **11,4** | **0,356** | — | | |
| Hauptperiode . . | | | **3,9** | **0,154** | — | | |
| Nachperiode . . | | | **10,1** | **0,369** | — | | |

Aceton mit der Expirationsluft und damit eventuell zu einer Minderausscheidung mit dem Harn führen könnte. Die durch die Lunge abgegebene Acetonmenge beträgt bei geringer Acetonurie mitunter mehr als 50 Proz., bei höhergradiger Acetonurie sicher weniger als 50 Proz. der insgesamt abgegebenen Acetonmenge. Es ergibt sich dann weiter die Frage, in welchem Maße Steigerung der Lungenventilation die durch die Expirationsluft abgegebene Acetonmenge vermehrt. Darüber liegen bisher keine Untersuchungen vor. Wenn wir nun den extremen, aus theoretischen Gründen unwahrscheinlichen Fall annehmen, daß die Acetonausscheidung proportional mit der Atemvermehrung ansteigt und bei den hier untersuchten Fällen eine Atemvermehrung von ungefähr 20 Proz. supponieren, so würde das mit der Luft abgegebene Aceton unter A. Ph.-Wirkung um höchstens 20 Proz. ansteigen, das Harnaceton um denselben Betrag abfallen. Dabei lassen wir außer acht, daß eine größere Ausscheidung durch die Lunge eventuell Nachbildung von Acetessigsäure aus $\beta$-Oxybuttersäure veranlassen könnte und keineswegs in demselben Ausmaße die Acetonurie vermindern müßte. Nun haben wir in unseren Versuchen durch A. Ph. *stärkere* Verringerung der Acetonurie beobachtet, die demnach durch vermehrte Acetonexhalation nicht genügend erklärt werden kann.

Wenn also in den oben erwähnten Arbeiten der Beweis erbracht wurde, daß ein Überschuß an alkalischen Valenzen im Blute zu einer Persistenz saurer Produkte führt, so glauben wir durch unsere Untersuchungen auf der anderen Seite nachgewiesen zu haben, daß ein Überwiegen saurer Valenzen im Blute dem Bestehenbleiben der intermediär gebildeten Acetessigsäure entgegenwirkt. Das Erhaltenbleiben saurer Stoffwechselprodukte bei Alkalose wurde als Kompensationsmechanismus aufgefaßt. Andererseits muß auch bei Acidose die von uns nachgewiesene Verminderung der Ketonurie und damit auch der Ketonämie neben anderen dem Organismus zur Verfügung stehenden Regulationsvorrichtungen zur Erhaltung des Säurebasengleichgewichts dienen.

Bemerkenswert ist auch im Falle 4 das Verschwinden der Glykosurie während der A. Ph.-Periode, was vielleicht durch die Untersuchungsresultate von *Elias* und *Weiss* erklärt werden könnte. Diese beiden Autoren haben nach intravenösen Infusionen von alkalischem und saurem Natriumphosphat Herabsetzung des Blut- und Harnzuckers beobachtet.

**Zusammenfassung.**

*Es wurde der Einfluß der durch perorale Zufuhr von saurem Ammonphosphat erzeugten Acidose auf die Acetonurie studiert, und zwar bei zwei Normalfällen nach Kohlehydratentziehung und bei zwei mittelschweren Diabetesfällen. Die Acidose wirkt antiketonurisch.*

**Literatur.**

1) *Davies, Haldane* und *Kennaway*, Journ. of Physiol. **54**, 32, 1920. — 2) *Elias* und *Weiss*, Wien. Arch. f. inn. Med. **4**, **29**, 1922. — 3) *Freudenberg* und *György*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 9, S. 410. — 4) *J. B. S. Haldane*, Journ. of Physiol. **55**, 265, 1921. — 5) *Macleod* und *Knapp*, Amer. Journ. of Physiol. **47**, 189, 1919. — 6) *Porges*, diese Zeitschr. **127**, **293**, 1922. — 7) *Porges* und *Adlersberg*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 24; Wien. klin. Wochenschr. 1923, Nr. 29. — 8) *Porges*, *Leimdörfer* und *Markovici*, Zeitschr. f. klin. Med. **73**, 389, 1911. — 9) *Porges* und *Lipschütz*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **97**, 1923.

# Über die Verschiebung des isoelektrischen Punktes der Gelatine durch Formaldehyd[1].

Von

**Otto Gerngross und Stefan Bach.**

(Aus dem technisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule Charlottenburg.)

*(Eingegangen am 14. Oktober 1923.)*

Es bot Interesse, den Einfluß von Formaldehyd auf den isoelektrischen Punkt der Gelatine kataphoretisch festzustellen, da eine Verschiebung nach der sauren Seite hin als ein sicheres Zeichen der Reaktion basischer Gruppen des *intakten Eiweißes* mit Formaldehyd angesehen werden müßte. Denn bei der Überführung wandern nur die hochmolekularen, kolloiden Glutin- oder dem Glutin noch nahestehenden Teilchen in unveränderter Form, und nur sie werden beim Nachweis der Wanderungsrichtung im Anoden- bzw. Kathodenraum durch Tannin geflockt. Somit kann man sicher sein, daß bei einer Verschiebung des isoelektrischen Punktes in der erwarteten Richtung (nach der sauren Seite) nicht nur Abbauprodukte, sondern die Proteine selber mit Formaldehyd reagiert haben.

Die Untersuchung sollte einerseits für das Wesen des isoelektrischen Punktes eines kolloiden Ampholyten (Verminderung seiner Basendissoziationskonstante $k_b$ durch Formaldehyd und dadurch Erhöhung von $I = \sqrt{k_w \cdot \frac{k_a}{k_b}}$[2]) und andererseits für die Theorie der Gerbung aufschlußreich sein. Für letztere deshalb, weil noch immer die Ansicht vertreten wird, daß es sich bei der Formaldehydgerbung im wesentlichen um keine chemische Reaktion zwischen den hochmolekularen, reaktions-

[1]) Vorgetragen am 5. Oktober 1922 in Frankfurt a. M. vor dem Internationalen Verein der Lederindustrie-Chemiker.

[2]) *L. Michaelis, H. Davidsohn*, diese Zeitschr. **80**, 143, 1910.

trägen Proteinen mit dem Formaldehyd, sondern um einen physikalischen Vorgang, schützende Umhüllung der Fibrillen mit Aldehydkondensationsprodukten handele[1]), während die durch Säure- und Alkaliadsorptionsversuche nachweisbare Aciditätserhöhung des Kollagens[2]) lediglich durch Aminosäuren und Polypeptide und die *Cannizzaro*sche Reaktion vorgetäuscht sei.

Die Versuche wurden an zwei verschiedenen Präparaten in der von *L. Michaelis* und *W. Grineff*[3]) angegebenen Weise durchgeführt. Die Pufferung erfolgte mit n/10 Essigsäure-Acetatgemischen, unter Konstanthaltung der Acetat- und Variation der Essigsäuremengen, um einen etwaigen Salzfehler in den Vergleichsversuchen nach Möglichkeit auszuschalten. Die $p_H$-Messungen mußten nämlich mit einer Indikatorenmethode durchgeführt werden, da potentiometrische Messungen bei Gegenwart von Formaldehyd infolge seiner zu befürchtenden Umwandlung an der Anode in Ameisensäure[4]) von vornherein aussichtslos erschienen. Nachdem wir festgestellt hatten, daß *γ-Dinitrophenol* weder von Formaldehyd noch von Gelatine (Eiweißfehler) in den von uns verwendeten Konzentrationen und $p_H$-Bereichen wesentlich beeinflußt wurde, machten wir von diesem Indikator nach dem von *L. Michaelis* und *A. Gyemant*[5]) eingeführten pufferlosen *h*-Bestimmungsverfahren mit Dauerreihen Gebrauch; für eine Kontrolle der Methode bei ihrer Anwendung auf die formaldehydfreien Flüssigkeiten wurde durch potentiometrische Messungen Sorge getragen und ihre für unseren Zweck vollkommen genügende Zuverlässigkeit festgestellt.

Die Formaldehyd-Gelatinelösungen bereiteten wir durch Vermengen von Gelatine mit Formaldehydlösungen derart, daß die Mittelflüssigkeiten ½ Proz. Gelatine und 10 Proz. Formaldehyd enthielten. Der große Formaldehydüberschuß schien geboten, da die Reaktionsgleichung[6]), nach der man sich die erwartete Einwirkung des Formaldehyds auf das Proteinmolekül etwa vorzustellen hat, erfahrungsgemäß nur durch

---

[1]) *W. Moeller*, Collegium **1919**, S. 270; **1920**, S. 186; **1921**, S. 22; Zeitschr. f. Leder- u. Gerbereichem. **2**, 88, 1923.

[2]) *E. Stiasny*, Collegium **1908**, S. 132; *O. Gerngross*, ebendaselbst **1920**, S. 2; **1921**, S. 169; *O. Gerngross* und *H. Loewe*, ebendaselbst **1922**, S. 229. *A. Lottermoser* und *B. Hennig*, Kolloid Zeitschr. **32**, **51**, 1923.

[3]) *L. Michaelis* und *W. Grineff*, diese Zeitschr. **41**, 374, 1912.

[4]) *H. D. Law*, Journ. of the Chem. Soc. **87**, 198, 1905; *E. Müller*, Ann. d. Chem. **420**, 241, 1920; Zeitschr. f. Elektrochem. **27**, 558, 1921.

[5]) *L. Michaelis* und *A. Gyemant*, diese Zeitschr. **109**, 165, 1920; *L. Michaelis*, Wochenschr. f. Brauerei **38**, 107, 1921.

[6]) Die Formulierung des Vorganges, welcher die Aciditätserhöhung veranlaßt, erscheint für diese Arbeit belanglos, und es ist für diese Überlegungen unwesentlich, ob es sich tatsächlich nur um Methylenaminogruppen oder um Verbindungen des Formaldehyds mit dem im Protein bestimmt freien Imidazolring (*O. Gerngross*, Zeitschr. f. physiolog. Chemie **108**, 52, 1919) oder auch um Stoffe vom Typus des Triformalglycinesters handelt, deren Bildung durch die neuesten Arbeiten *M. Bergmanns*, Collegium **1923**, S. 210 wahrscheinlich gemacht wurde.

größere Mengen Formaldehyd im gewünschten Sinne von links nach rechts verschoben wird[1]):

$$\begin{matrix} R.COOH \\ | \\ NH_2 \end{matrix} + CH_2O \rightleftarrows \begin{matrix} R.COOH \\ | \\ N{=}CH_2 \end{matrix} + H_2O.$$

Durch zwei Versuchsreihenpaare wurde festgestellt, daß Formaldehyd tatsächlich den $p_H$ des isoelektrischen Punktes nach dem sauren Gebiet hin verschiebt, und zwar unter den im folgenden mit allen experimentellen Einzelheiten beschriebenen Versuchsbedingungen um 0,45. Bei der einen Gelatine zeigte sich eine Verschiebung von $p_H = 4{,}75$ auf 4,3, bei der anderen von $p_H = 5{,}05$ auf 4,6.

Man sieht also, daß bei Gegenwart von Formaldehyd eine größere [H$^{\cdot}$]-Konzentration als bei gewöhnlicher Gelatine aufgewendet werden muß, um den isoelektrischen Punkt zu erreichen, *daß also durch die Formaldehydeinwirkung der an und für sich schwach saure Charakter der Glutinproteine verstärkt ist.* Durch Zusatz wechselnder Mengen von Salzsäure bzw. Natronlauge zu Formaldehyd-Eiweißsolen (Eialbumin, Kaninchen-, Pferdeserum) und Bestimmung des Flockungs- und Gelatinierungsoptimums — allerdings ohne Vornahme irgendwelcher *h*-Messungen — haben neuestens auch *L. Reiner* und *A. Marton*[2]) auf eine Verschiebung des isoelektrischen Punktes in der Richtung größerer Wasserstoffionenkonzentration geschlossen.

Erwähnenswert scheint es endlich, daß nicht nur das Gerbmittel Formaldehyd, sondern auch die durch ihre Gerbwirkung ausgezeichneten Aluminiumsalze (Alaungerbung), wie kürzlich gezeigt wurde[3]), den isoelektrischen Punkt nach der sauren Seite verschieben.

## Versuche.

### *I. „Aussiger Gelatine B" der Scheidemandel-A.-G.*

### A. Kataphorese ohne Formaldehyd.

Die Gelatine wies alle Merkmale guter Qualität auf, das ist Klarheit der Lösung, hohe Viskosität und Gallertfestigkeit. Sie enthielt:

| | |
|---|---|
| Wasser . . . . . . . | 15,0 Proz. |
| Asche . . . . . . . . | 1,1 „ |

Nach diesen Zahlen wurde das Trockengewicht, auf das sich alle Gehaltsangaben der Gelatinelösungen beziehen, berechnet. Der $p_H$ der 1 Proz. Gelatine enthaltenden Lösung in ausgekochtem Wasser war 5,7.

[1]) *H. Schiff*, Ann. d. Chem. **320**, 72, 1901; *S. P. L. Sörensen*, diese Zeitschr. **7**, 45, 1908; *O. Gerngross*, Collegium **1920**, S. 8.

[2]) *L. Reiner* und *A. Marton*, Kolloid-Zeitschr. **32**, 276, 1923.

[3]) *S. E. Sheppard*, *S. S. Sweet* und *A. J. Benedict*, Journ. Amer. Chem. Soc. **44**, 1862, 1922.

Die im *Ostwald*schen Viskosimeter bestimmte *Viskosität*[1]) der 2proz. Lösung bei 35° C und $p_H = 5{,}7$ betrug 1,67, die *Gallertfestigkeit* nach *Lipowitz*[2]) der 10proz. Lösung nach 5 Stunden 600 g bei $p_H = 5{,}7$ (gemessen in 2proz. Lösung).

Die *Mittelflüssigkeit* in dem Überführungsapparat nach *L. Michaelis*[3]) enthielt 0,5 Proz. Gelatine, konstanten Natriumacetat- und wechselnden Essigsäuregehalt, und zur Erhöhung des spezifischen Gewichtes etwas Zucker.

Sie setzte sich folgendermaßen zusammen: 6 ccm n/10 Natriumacetat, *n* ccm n/10 Essigsäure, 10 ccm 2proz. Gelatinelösung, das Ganze aufgefüllt auf 40 ccm Wasser und mit 0,5 g Zucker versetzt.

Das *n* wurde auf Grund der von *Michaelis* und *Davidsohn*[4]) angewendeten Formel:

$$h = \frac{\text{Dissoziationskonstante der Essigsäure} \times \text{Menge der Essigsäure}}{\text{Dissoziationsgrad des Natriumacetats} \times \text{Menge des Natriumacetats}}$$

errechnet. Die Dissoziationskonstante der Essigsäure ist $= 1{,}86 \cdot 10^{-5}$, der Dissoziationsgrad des Natriumacetats 0,90 in der etwa n/100 Lösung. Die konstante Menge des Natriumacetats 6 ccm n/10 Lösung. Aus diesen Größen ließ sich die jeweils nötige Menge Essigsäure für den gewünschten $p_H$ errechnen (für 18° C):

$$lg\, n = 0{,}462\,88 + 5 - p_H,$$

wobei als $p_H$ der verlangte einzusetzen ist. Die Zuverlässigkeit unserer Berechnung und der *h*-Messungen mit den *Michaelis*schen Dauerreihen wurde zunächst durch einige Bestimmungen erprobt:

*Tabelle I.*

Vergleich berechneter, nach *Sörensen*, *Michaelis* und elektrometrisch bestimmter $p_H$-Zahlen.

| Nr. | $p_H$ berechnet | $p_H$ gemessen mit *Sörensen*-Puffern | $p_H$ gemessen mit Dauerreihen nach *Michaelis* | $p_H$ potentiometrisch bestimmt |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,8 | 5,75 | 5,8 | — |
| 2 | 4,2 | 4,2 | 4,17 | — |
| 3 | 5,15 | — | 5,15 | 5,22 |
| 4 | 4,9 | — | 4,9 | 4,93 |
| 5 | 4,5 | — | 4,55 | 4,57 |

Die Zusammensetzung der *Seitenflüssigkeit* war die gleiche wie die der Mittelflüssigkeit, nur ohne Gelatine und Zucker. Der $p_H$ der Mittel- und Seitenflüssigkeiten wurde vor und nach dem Stromdurchgang gemessen.

---

[1]) Quotient $\frac{\text{Auslaufszeit Gelatinelösung}}{\text{Auslaufszeit Wasser}}$. Bei genauer Gleichhaltung der thermischen Vorbehandlung für Vergleichsversuche vollkommen ausreichend.

[2]) *Lipowitz*, Neue chemisch-technische Untersuchungen, S. 37. Berlin 1861; vgl. *O. Gerngross* und *H. A. Brecht*, Collegium **1922**, S. 262.

[3]) *L. Michaelis* und *H. Davidsohn*, diese Zeitschr. **30**, 485, 1911; *L. Michaelis*, Praktikum der physikalischen Chemie, S. 97. Berlin 1921.

[4]) *Dieselben*, diese Zeitschr. **33**, 461, 1911.

Als Stromquelle diente ein Gleichstrom von 220 Volt. Die Strommenge betrug infolge des geringen Elektrolytgehaltes nur ungefähr 10 Milliampere. Spannung und Amperezahl blieben konstant. Stromdurchgang 2 Stunden.

Die Wanderungsrichtung wurde durch Zusatz von gleichen Mengen 2proz. Tanninlösung zu den Seitenflüssigkeiten bestimmt.

Aus der Tabelle II ergibt sich eine isoelektrische Zone von $p_H$ 5,15 bis 4,9, somit ein isoelektrischer Punkt bei etwa $p_H = 5,05$. *Auf diesen überraschenden Befund — Michaelis und Grineff*[1]) *stellten mit der gleichen Methode den seither klassisch gewordenen isoelektrischen Punkt von* $p_H = 4,7$ *fest — wird in der folgenden Arbeit ausführlich eingegangen werden.* Er wurde übrigens durch wiederholte Bestimmung des Trübungs-, Gelatinierungs- und Alkoholflockungsoptimums bestätigt. Es seien nur einige dieser Versuche hier angegeben:

*Tabelle II.*

Kataphorese „Aussiger Gelatine" ohne Formaldehyd.

| Nr. | $n$ | $p_H$ berechnet | $p_H$ der Mittelflüssigkeit nach dem Stromdurchgang gemessen | | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | kolorimetrisch | elektrometrisch | |
| 1 | 0 | 5,9 | 5,9 | — | anodisch |
| 2 | 0,64 | 5,6 | 5,65 | — | „ |
| 3 | 0,81 | 5,5 | 5,4 | — | „ |
| 4 | 1,02 | 5,4 | — | 5,39 | „ |
| 5 | 1,28 | 5,3 | 5,3 | — | „ |
| 6 | 1,61 | 5,2 | 5,2 | — | „ |
| 7 | 1,61 | 5,2 | 5,1 | — | anod., Spur kathod. |
| 8 | 1,61 | 5,2 | — | — | „ „ „ |
| 9 | 1,61 | 5,2 | 5,15 | — | Spur kathodisch |
| 10 | 2,1 | 5,1 | 5,1 | — | kathod., Spur anod. |
| 11 | 2,1 | 5,1 | 5,1 | — | steht still |
| 12 | 2,1 | 5,1 | 5,1 | — | „ „ |
| 13 | 3,4 | 4,9 | — | 5,1 | fast Stillstand, Spur anod. |
| 14 | 2,55 | 5,0 | 5,0 | — | Spur kathodisch |
| 15 | 2,55 | 5,0 | 5,0 | — | kathodisch |
| 16 | 2,55 | 5,0 | 5,0 | — | schw. anod. u. kathod. |
| 17 | 2,55 | 5,0 | 5,0 | — | anod., Spur kathod. |
| 18 | 2,55 | 5,0 | 5,0 | — | „ „ „ |
| 19 | 2,6 | 5,05 | — | 5,1 | „ „ „ |
| 20 | 3,21 | 4,9 | 4,9 | — | anod. und kathod. |
| 21 | 4,2 | 4,8 | — | 4,91 | „ „ „ |
| 22 | 3,21 | 4,9 | 4,9 | — | „ „ „ |
| 23 | 3,21 | 4,9 | 4,9 | — | kathod., Spur anod. |
| 24 | 3,21 | 4,9 | 4,9 | — | kathod., schw. anod. |
| 25 | 3,21 | 4,9 | 4,9 | — | kathod., Spur anod. |
| 26 | 4,2 | 4,8 | — | 4,83 | kathodisch |
| 27 | 4,04 | 4,8 | 4,8 | — | „ |
| 28 | 4,04 | 4,8 | 4,8 | — | „ |
| 29 | 5,09 | 4,7 | 4,7 | — | „ |
| 30 | 5,09 | 4,7 | 4,7 | — | „ |
| 31 | 5,09 | 4,7 | 4,7 | — | „ |
| 32 | 6,50 | 4,6 | — | 4,67 | „ |

[1]) *L. Michaelis* und *W. Grineff*, ebendaselbst 41, 374, 1912.

### Trübungs- und Gelatinierungsversuch.

Es wurden in ähnlicher Weise, wie bei den Kataphoresen geschildert, Pufferlösungen mit steigendem $p_H$ unter Konstanthaltung der Natriumacetat- und Variation der Essigsäuremengen hergestellt, dann mit Gelatinelösung aufgefüllt. Falls die Kapazität des Puffers bei den höheren Gelatinekonzentrationen nicht ausreichte, was in Vorversuchen festzustellen war, mußten unter Berücksichtigung eines konstanten Volumens und Gelatinegehaltes geringe Mengen der Elektrolytlösungen zugesetzt werden, um die gewünschte $p_H$-Abstufung zu erreichen, ein Vorgang, der einer gewissen Geschicklichkeit und Übung bedurfte.

Je 10 ccm dieser Lösungen wurden in gleichkalibrigen Röhrchen auf 50° erhitzt, dann eine Viertelstunde in ein Wasserbad von 18° gestellt, alsdann in einen Eisschrank unter ständiger Beobachtung erstarren gelassen. Die Reihenfolge der Gelatinierung und die Stärke der Opaleszenz nimmt in den Tabellen von — — — nach + + + zu. Es sei übrigens erwähnt, daß speziell *für rasche technische Versuche die Methode des Trübungsoptimums für die Bestimmung des isoelektrischen Punktes einigermaßen hochwertiger und gut geklärter Gelatinen ausgezeichnete Dienste leisten kann.*

*Tabelle III.*

Trübungsoptimum „Aussiger Gelatine“.

| Nr. | $p_H$ kolorimetrisch gemessen | n/10-Essigsäure ccm | n/10-Acetat ccm | Wasser ccm | 4½ proz. Gelatine ccm | Trübung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,2 | 0,75 | 3 | 20,25 | 9 | ++ |
| 2 | 5,0 | 1,26 | 3 | 19,74 | 9 | +++ |
| 3 | 4,8 | 2,01 | 3 | 18,99 | 9 | + |
| 4 | 4,7 | 3,18 | 3 | 17,82 | 9 | — |

*Tabelle IV.*

Trübungs- und Gelatinierungsoptimum „Aussiger Gelatine“.

| Nr. | $p_H$ kolorimetrisch gemessen | Trübung | Gelatinierungsgeschwindigkeit |
|---|---|---|---|
| 1 | 5,15 | + | ++ |
| 2 | 5,0 | +++ | +++ |
| 3 | 4,8 | ++ | + |
| 4 | 4,7 | — — | — — |

### Flockungsversuche mit Alkohol.

Die Herstellung der Lösungen erfolgte wie bei den Erstarrungs- und Trübungsversuchen. In das Röhrchen, in dem man die isoelektrische Flüssigkeit vermutete, wurde so viel Alkohol gegeben, bis eine soeben erkennbare Trübung entstand. Dieselbe Alkoholmenge wurde nun auch den anderen Röhrchen zugesetzt. Dann ließ man 30 Minuten bei Zimmer-

temperatur stehen. Diese Zeit war für die Einstellung des Flockungsoptimums ausreichend, das unschwer durch die auftretende, vergleichsweise maximale Trübung erkannt werden konnte.

*Tabelle V.*

Alkoholflockungsoptimum „Aussiger Gelatine".

| Nr. | $p_H$ kolorimetrisch gemessen | Essigsäure ccm | Acetat ccm | Wasser ccm | 1 proz. Gelatine ccm | Flockung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,6 | 0,22 | 2 | 3,78 | 2 | — — |
| 2 | 5,4 | 0,33 | 2 | 3,67 | 2 | + |
| 3 | 5,2 | 0,54 | 2 | 3,46 | 2 | ++ |
| 4 | 5,1 | 0,67 | 2 | 3,33 | 2 | +++ |
| 5 | 5,0 | 0,85 | 2 | 3,15 | 2 | + |
| 6 | 4,8 | 1,35 | 2 | 2,65 | 2 | — — |
| 7 | 4,7 | 1,69 | 2 | 2,31 | 2 | — — — |

Flockungsoptimum bei $p_H = 5,1$; Alkoholzusatz: 7 ccm.

### B. Kataphorese mit Formaldehyd.

Die Nichtbeeinflussung der Farbtiefe des verwandten $\gamma$-Dinitrophenols durch Formaldehyd wurde folgendermaßen festgestellt:

Es wurde ein Puffergemisch (6 ccm Acetat + 5,8 ccm Essigsäure) hergestellt und je 10 ccm dieser Pufferlösung versetzt mit:

a) 1 ccm Formaldehyd + 1 ccm Indikator
b) 1 „ Wasser + 1 „ „
c) 2 „ Formaldehyd + 1 „ „
d) 2 „ Wasser + 1 „ „

Es wurde die Farbtiefe dieser Lösungen verglichen und zwischen a und b und auch zwischen c und d keine Differenz gefunden. Der nicht unwesentliche saure, etwa 40proz. Formaldehyd wurde vor dem Versuch mittels Natronlauge auf einen $p_H$ von 4,9 neutralisiert. Die Zusammensetzung der Mittelflüssigkeit war in allen Fällen:

10 ccm 2proz. Gelatinelösung, 10 ccm neutralisierten 40proz. Formaldehyds, 6 ccm n/10 Natriumacetats, *n* ccm Essigsäure, das Ganze aufgefüllt auf 40 ccm mit Wasser, Zusatz von ½ g Zucker.

Die warme Gelatinelösung wurde in das mit Formaldehyd versetzte Puffergemisch gegeben und bis zur homogenen Durchmischung geschüttelt. Da sich eine Verminderung der Wanderungsgeschwindigkeit bei den Versuchen mit Formaldehyd im Vergleich zu denen ohne Formaldehyd bemerkbar zu machen schien, wurde 2½- bis 3stündiger Stromdurchgang gewählt. Die Veränderungen des $p_H$ in der Mittel- und Seitenflüssigkeit nach dem Stromdurchgang waren im allgemeinen größer als bei Abwesenheit von Formaldehyd.

*Tabelle VI.*

Kataphorese „Aussiger Gelatine“ mit Formaldehyd.

| Nr. | $n$ | $p_H$ berechnet | $p_H$ der Mittelflüssigkeit nach d. Stromdurchgang kolorimetrisch gemessen | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,61 | 5,2 | 5,25 | anodisch |
| 2 | 3,55 | 5,0 | 5,0 | „ |
| 3 | 3,21 | 4,9 | 4,85 | „ |
| 4 | 4,04 | 4,8 | 4,9 | Spur anodisch |
| 5 | 4,04 | 4,8 | — | „ „ |
| 6 | 4,04 | 4,8 | 4,75 | „ anodisch |
| 7 | 4,04 | 4,8 | 4,8 | „ |
| 8 | 5,08 | 4,7 | 4,65 | anodisch, Spur kathodisch |
| 9 | 5,08 | 4,7 | 4,55 | „ „ „ |
| 10 | 5,08 | 4,7 | 4,65 | Stillstand |
| 11 | 5,08 | 4,7 | 4,55 | schwach anod. u. kathod. |
| 12 | 6,4 | 4,6 | 4,6 | anodisch |
| 13 | 6,4 | 4,6 | 4,6 | Stillstand |
| 14 | 6,4 | 4,6 | 4,6 | anodisch |
| 15 | 6,4 | 4,6 | 4,57 | anodisch u. kathodisch |
| 16 | 8,06 | 4,5 | 4,5 | schwach anodisch |
| 17 | 8,06 | 4,5 | 4,45 | schw. kathod., Spur anod. |
| 18 | 10,14 | 4,4 | 4,4 | kathodisch |
| 19 | 10,14 | 4,4 | 4,4 | „ |
| 20 | 12,77 | 4,3 | 4,3 | „ |
| 21 | 16,08 | 4,25 | 4,25 | „ |
| 22 | 25,5 | 4,15 | 4,1 | „ |

Die isoelektrische Zone lag zwischen $p_H = 4,7$ und 4,5, der isoelektrische Punkt somit etwa bei $p_H = 4,6$. Da er bei Abwesenheit von Formaldehyd bei $p_H = 5,05$ festgestellt wurde, war eine Verschiebung nach der sauren Seite um 0,45 eingetreten.

### *II. Gewöhnliche „Speisegelatine“.*

#### A. Kataphorese ohne Formaldehyd.

Der überraschend hoch liegende isoelektrische Punkt der *„Aussiger Gelatine B“*, ließ dieses Präparat als abnorm und für unsere Untersuchung deshalb als nicht entscheidend erscheinen. Wir besorgten uns daher zwecks Vornahme eines Kontrollversuches aus der Drogerie eine gewöhnliche Speisegelatine. Sie war im Vergleich zur Aussiger qualitativ minderwertig, wie aus den Viskositäts- und Gallertfestigkeitsbestimmungen hervorgeht.

Sie enthielt:

Wasser . . . . . . . 16,00 Proz.
Asche . . . . . . . 1,08 „

Die Viskosität der 2proz. Lösung bei 35° C und $p_H = 5,0$ betrug 1,38, die Gallertfestigkeit der 10proz. Lösung bei 18° und $p_H = 5,0$ nach 5 Stunden 150 g.

Versuchsanordnung genau wie bei der Aussiger Gelatine.

*Tabelle VII.* Kataphorese „Speisegelatine“ ohne Formaldehyd.

| Nr. | $n$ | $p_H$ berechnet | $p_H$ der Mittelflüssigkeit nach dem Stromdurchgang gemessen | | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | kolorimetrisch | elektrometrisch | |
| 1 | 2,02 | 5,1 | 5,1 | — | anodisch |
| 2 | 2,55 | 5,0 | 5,0 | — | anod., Spur kathod. |
| 3 | 2,55 | 5,0 | 5,0 | — | „ „ „ |
| 4 | 3,2 | 4,9 | 4,9 | — | stark anod., schwach kathod. |
| 5 | 4,2 | 4,85 | — | 4,83 | anodisch |
| 6 | 4,4 | 4,8 | 4,8 | — | anod., Spur kathod. |
| 7 | 5,08 | 4,7 | 4,65 | — | stark kathod., anod. |
| 8 | 6,4 | 4,6 | — | — | kathod, Spur anod. |
| 9 | 8,06 | 4,5 | 4,5 | — | stark kathodisch, Spur anod. |
| 10 | 10,15 | 4,4 | 4,4 | — | kathodisch |

Der isoelektrische Punkt wurde demnach bei etwa $p_H = 4{,}75$ ermittelt. Kontrollen, bei denen das Erstarrungsoptimum der Gelatinelösungen als Merkmale des isoelektrischen Punktes festgestellt wurde, ergaben diesen bei etwa $p_H = 4{,}6$.

*Tabelle VIII.* Gelatinierungsoptimum „Speisegelatine“.

| Nr. | $p_H$ kolorimetrisch gemessen | Essigsäure ccm | Acetat ccm | Wasser ccm | 9 proz. Gelatine ccm | Gelatinierungs-geschwindigkeit |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 4,6 | 4 | 3 | 17 | 9 | +++ |
| 2 | 4,7 | 2,5 | 3 | 18,5 | 9 | ++ |
| 3 | 4,8 | 2,0 | 3 | 19,0 | 9 | + |
| 4 | 4,95 | 1,3 | 3 | 19,7 | 9 | — |

Man kann somit diese Gelatine als „normal“ bezeichnen.

## B. Kataphorese mit Formaldehyd.

Die Versuchsanordnung war genau dieselbe wie bei der Aussiger Gelatine.

*Tabelle IX.* Kataphorese „Speisegelatine“ mit Formaldehyd.

| Nr. | $n$ | $p_H$ berechnet | $p_H$ der Mittelflüssigkeit nach dem Stromdurchgang | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 4,04 | 4,8 | 4,8 | anodisch |
| 2 | 5,08 | 4,7 | 4,7 | „ |
| 3 | 8,06 | 4,5 | 4,5 | „ |
| 4 | 10,15 | 4,4 | 4,35 | anod., schwach kathod. |
| 5 | 10,15 | 4,4 | 4,4 | anod., Spur kathod. |
| 6 | 12,7 | 4,3 | 4,2 | kathodisch |
| 7 | 12,7 | 4,3 | 4,2 | kathod., Spur anod. |
| 8 | 20,2 | 4,1 | 4,1 | kathodisch |

Die isoelektrische Zone reicht von $p_H = 4{,}4$ bis 4,2, es ergibt sich somit ein isoelektrischer Punkt bei $p_H = 4{,}3$ und eine Verschiebung durch den Einfluß des Formaldehyds um den gleichen Betrag wie bei der Aussiger Gelatine, um 0,45.

# Über die isoelektrischen Punkte des Glutins aus Haut und Knochen[1]).

Von

**O. Gerngross und St. Bach.**

(Aus dem technisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule Charlottenburg.)

*(Eingegangen am 14. Oktober 1923.)*

Der isoelektrische Punkt der Proteine bildet jenes auffallende Reaktionsgebiet, in welchem die meisten kolloiden Eigenschaften dieser Stoffe eine kulminative Entfaltung zeigen. Die leicht zugängliche und bequem zu handhabende *Gelatine* war es häufig, an der gleichsam als Modell für die anderen Eiweißkörper dieses Gebiet studiert wurde.

*R. Chiari*[2]), der durch Bestimmung des Quellungsminimums als erster den isoelektrischen Punkt der Gelatine unter Messung der Wasserstoffionenkonzentration feststellte, fand ihn bei einer $[H^{\cdot}] = 2 \,.\, 10^{-5}$ ($p_H = 4{,}6$); *L. Michaelis* und *W. Grineff*[3]), die das erstemal sich für den gleichen Zweck der wohl sichersten und unmittelbarsten Methode, nämlich der Ermittlung des Wanderungsstillstandes im elektrischen Potentialgefälle bedienten, gaben ihn bei $2{,}5 \,.\, 10^{-5}$ an ($p_H = 4{,}7$). Diese Größen, die man wohl als

---

[1]) Auf die neuen Feststellungen amerikanischer Forscher, daß ein zweiter „isoelektrischer Punkt" der Gelatine bei etwa $p_H = 8$ liegen soll, wird in dieser Arbeit nicht eingegangen. Vgl. *C. E. Davis* und *E. T. Oaks*, Journ. Amer. Chem. Soc. **44**, 464, 1922; *J. A. Wilson* und *E. J. Kern*, ebenda **44**, 2635, 1922.

[2]) *R. Chiari*, diese Zeitschr. **33**, 175, 1911. Es sei hier die historische Notiz eingeflochten, daß *Wo. Ostwald* als erster mit aller Deutlichkeit ein Quellungsminimum der Gelatine bei geringer Acidität — „100 ccm $H_2O + N$ bis 5 ccm m/10 HCl" — festgestellt hat. Schon in seiner Arbeit „Über den Einfluß von Säuren und Alkalien auf die Quellung der Gelatine", Pflügers Archiv **108**, 570, Fig. 3, 1905, zeichnete er die uns jetzt so geläufige Säurequellungskurve in ihrem charakteristischen Verlauf auf und zeigte übrigens bald nachher, Pflügers Archiv **111**, 606, 1906, die Parallelität zwischen Quellungskurven und Viskcsitätskurven verdünnter Gelatinelösungen.

[3]) *L. Michaelis* und *W. Grineff*, ebendaselbst **41**, 373, 1912.

innerhalb der Fehlergrenze liegend annehmen kann, sind von vielen Autoren bestätigt worden[1]).

Um so auffallender war der Befund in der dieser Untersuchung vorhergehenden Arbeit[2]), daß eine Knochengelatine von besonders guter Qualität einen isoelektrischen Punkt bei $p_H = 5{,}05$, also um $^3/_{10}$ Zehnerpotenzen höher als eine gleichzeitig untersuchte, gewöhnliche, qualitativ mindere Sorte mit „normalem" isoelektrischen Punkt zeigte. Für alle diejenigen, die mit der industriellen Herstellung von Gelatine bekannt sind, und die wissen, aus welch heterogenen Ausgangsmaterialien (Knochen, Häuten, Knorpeln, Sehnen verschiedenartiger Tiere) sie bereitet wird und welchen Einfluß die verschieden geübten Vorbehandlungen (Konservierung, Kälkung, Wäsche) des Rohstoffes und die verschiedenartigen, keineswegs einfachen Fabrikationsmethoden auf die Handelsware haben, sollte allerdings diese Variante der konstanten Größe keine Überraschung bedeuten.

Da man allgemein annimmt, daß die Qualität einer Gelatine außer von dem möglichst geringen Grade des hydrolytischen Abbaus von ihrer Reinheit, d. i. vor allem von ihrem Gehalt an Glutin (dem Umwandlungsprodukt der weißen kollagenen Bindegewebsfaser) abhängt, war zu vermuten, daß der an dem hochwertigen Material festgestellte isoelektrische Punkt von $p_H = 5{,}05$ dem isoelektrischen Punkt des Glutins vielleicht näher stand als der bisher ermittelte Wert vom $p_H = 4{,}6$ bis $4{,}7$.

Wir untersuchten nun zunächst einige verschiedene Handelsgelatinen und fanden isoelektrische Punkte von $p_H = 4{,}5$ bis 5. Es war bemerkenswert, daß drei *elektroosmotisch*[3]) gereinigte, sehr schöne Knochengelatinesorten der *Scheidemandel A.-G.* den Wert bei rund $p_H = 5{,}0$ zeigten, und daß ein gewisser Zusammenhang zwischen der Höhe des isoelektrischen Punktes und der Qualität der Gelatinen sich bemerkbar zu machen schien.

Nun hat es an intensiven Reinigungsbestrebungen von seiten der Forscher an den zur Untersuchung herangezogenen handelsüblichen Präparaten nicht gefehlt, wobei ein minimaler Aschegehalt als Kriterium größter Reinheit angesehen wurde. Aber diese Reinigungsmethoden waren möglicherweise nicht imstande, die aus den Eiweißrohstoffen stammenden Verunreinigungen des Glutins, von dem das *Elastin* der gelben elastischen Fasern, *Keratine*, *Mucine* und *Mucoide* an erster Stelle zu nennen sind, zu entfernen. Es ist bemerkenswert, *daß alle*

[1]) Z. B.: *J. Loeb*, Journ. Gen. Physiol. **1**, 39, 1918 [$p_H = 4{,}7$]; *D. J. Lloyd*, Biochem. Journ. **14**, 147, 584, 1920 [$p_H = 4{,}6$]; *Wintgen* und *Vogel*, Kolloid.-Zeitschr. **30**, 45, 1922 [$p_H = 4{,}6$]; *J. A. Wilson* und *E. J. Kern*, Journ. Amer. Chem. Soc. **44**, 2636, 1922 [$p_H = 4{,}7$]; *R. H. Bogue*, ebendaselbst **43**, 1764, 1921 [$p_H = 4{,}7$].

[2]) Diese Zeitschr. **143**, 533, 1923.

[3]) D. R. P. 293188, 293762, 1914; *S. Prausnitz*, Zeitschr. f. Elektrochem. **28**, 35, 1922. Es sei erwähnt, daß die elektroosmotische Reinigung sich nicht nur auf Befreiung von Elektrolyten — die man an dem äußerst geringen Aschegehalt erkennt (vgl. S. 546) — erstrecken soll, sondern auch auf Ausscheidung nicht kollagener Proteine.

*die hier genannten Proteine im Vergleich zu dem an Diaminosäuren relativ reichen acidophilen Kollagen sauer sind* [1]), *also den isoelektrischen Punkt in dieser Richtung verschieben müßten* [2]).

Auf jeden Fall schien es interessant, einmal eine Gelatine vorzunehmen, bei der auf *Reinheit des kollagenen Ausgangsmaterials* Wert gelegt und deren Vorgeschichte vollkommen bekannt war. Reines Kollagen liegt uns in Form des „*weißen Analysenhautpulvers*" vor, wie es für die offiziellen Gerbstoffanalysen geliefert wird [3]). Es sei bemerkt, daß dieser Gelatinerohstoff schon an und für sich nie mehr als 0,2 bis höchstens 0,4 Proz. Asche enthält, während die üblichen, fertigen Handelsgelatinen im allgemeinen 1 Proz. und mehr davon besitzen.

Aus zwei verschiedenen, zeitlich weit auseinanderliegenden Hautpulverlieferungen wurde durch Verkochen mit destilliertem Wasser Gelatine bereitet. Den einen Sud führten wir in unserem Laboratorium aus, die Herstellung des zweiten Sudes übernahm freundlichst das Centrallaboratorium der *Scheidemandel A.-G.* in Berlin. Eine dritte Gelatine stellten wir uns endlich aus einer von der Firma *Röhm & Haas* in Darmstadt in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellten Zickelblöße her, die auf enzymatischem Wege durch den Araäscher, einem Pankreaspräparat dieser Firma, gereinigt war. Besonders die letztere Gelatine, die sich aus der frischen, gequollenen Haut mit Leichtigkeit ausschmelzen ließ, war von wunderbarer Qualität. Sie gelatinierte bei Zimmertemperatur selbst in 0,2proz. Lösung rasch, und auch 0,1proz. Lösungen waren noch hoch viskos.

Die isoelektrischen Punkte dieser drei Präparate wurden kataphoretisch bei 18°C bestimmt, die $p_H$-Messungen im Verlaufe dieser Arbeit ausnahmslos potentiometrisch durchgeführt. *Es ergab sich bei allen drei Präparaten ein isoelektrischer Punkt bei rund $p_H = 5{,}5$,* also um fast eine Zehnerpotenz höher als bisher für reine Gelatine angenommen. Ob auch der isoelektrische Punkt des reinen Knochen-

[1]) *P. G. Unna*, Biochemie der Haut, S. 19 (Mucine), S. 25 (Keratine und Glutin), S. 58 (Elastin). Jena 1913.

[2]) Daß saure Farbstoffe, zu denen nach *P. G. Unna* das acidophile Kollagen *ebenso wie zu sauren Eiweißkörpern* eine bedeutende Affinität besitzt, den isoelektrischen Punkt von Proteinen (Flockungsoptimum) nach Gebieten höherer, basische Farbstoffe nach Gebieten niederer Wasserstoffionenkonzentration verschiebt, ist neuerdings gezeitigt worden. *L. Michaelis* und *A. v. Szent-Györgyi*, diese Zeitschr. **108**, 181, 1920; *K. Umetsu*, ebendaselbst **137**, 258, 1923.

[3]) Es wird in Deutschland durch Vermahlen und Trocknen von sorgfältig gereinigten, mit Natriumsulfid geäscherten, d. h. von epidermoiden Gebilden (Keratinen), „Schleimstoffen" (Mucinen und Mucoiden), elastischen Fasern (Elastin) weitgehend befreiten, mit Milchsäure neutralisierten und sorgfältig gewaschenen Rindshäuten von der *Deutschen Versuchsanstalt für Lederindustrie* in Freiberg in Sachsen hergestellt.

glutins so hoch liegt, haben wir bisher nicht untersucht, aber die Resultate an den schönen, elektroosmotisch gereinigten Präparaten lassen erkennen, daß er sich gewiß höher als bei $p_H = 4{,}7$ befindet.

Es interessierte uns nun noch, inwieweit man vielleicht vom isoelektrischen Punkt des reinen Hautglutins auf den des Hautkollagens, der zur Gerbung gelangenden tierischen Blöße, schließen könne, eine Frage, die entschieden gerberische Bedeutung besitzt.[1]) Man darf wohl mit *F. Hofmeister* annehmen, daß der Übergang des Kollagens in Glutin in einer Wasseraufnahme, in einer Hydrolyse, bestehe[2]). Nun haben *R. Wintgen* und *H. Vogel*[3]) gezeigt, daß das Salzsäurebindungsvermögen der Gelatine sich bei längerem Erhitzen nicht ändert, und *O. Gerngross* und *H. A. Brecht*[4]) stellten beim gelinden stufenweisen Abbau der Gelatine bei $p_H = 4{,}7$ fest, daß der $p_H$ der Hydrolysate konstant bleibt. Wir haben nun in Übereinstimmung mit diesen älteren Befunden beobachtet, daß sich auch der isoelektrische Punkt der Gelatine beim schwach sauren Abbau nicht wesentlich verschiebt. Der Rückschluß ist somit wahrscheinlich berechtigt, daß auch der Übergang des Kollagens in das Glutin beim Verkochen in neutraler oder schwachsaurer Lösung ohne wesentliche Änderung des isoelektrischen Punktes erfolge, das Hautkollagen somit ebenfalls den isoelektrischen Punkt bei $p_H = 5{,}5$ habe.

Nun liegen einige Experimente über den isoelektrischen Punkt des Hautkollagens bereits vor, die alle auf eine Zahl oberhalb $p_H = 4{,}7$ hindeuten. *F. L. Seymour-Jones*[5]), der ihn an englischem Hautpulver gemessen haben dürfte, gibt ihn mit $p_H = 4{,}8$ an. *J. A. Wilson* und *A. F. Gallun jun.*[6]) beobachteten an einer Kalbsblöße ein Schwellungsminimum bei $p_H = 5{,}1$, und *A. W. Thomas* und *M. W. Kelley*[7]) stellten an amerikanischem Standardhautpulver ein Quellungsminimum bei $p_H = 5{,}58$ fest, ohne allerdings ihrem, wie uns scheint, sehr beachtenswerten Befund besondere Bedeutung beizulegen, da sie ihre Methode als sehr ungenau bezeichneten.

---

[1]) *H. R. Procter* schreibt übrigens in seinen ausgezeichneten „Principles of Leather manufacture", London 1922, S. 578: „The isoelectr. point of gelatin is $p_H = 4{,}7$, and that of hide-fibre appears to be practically the same".

[2]) *H. R. Procter*, The principles of Leather manufacture, S. 147. London 1922; *R. H. Bogue*, Chem. and Metal. Engineering **23**, Nr. 1—5, 1920.

[3]) *R. Wintgen* und *H. Vogel*, Kolloid.-Zeitschr. **30**, 45, 1922.

[4]) *O. Gerngross* und *H. A. Brecht*, Mitteilungen aus dem Material-Prüfungsamt zu Berlin-Dahlem **1922**, S. 253; Collegium **1922**, S. 262.

[5]) *F. L. Seymour-Jones*, Journ. Ind. Engin. Chem. **14**, 131, 1922.

[6]) *J. A. Wilson* und *A. F. Gallun jun.*, ebendaselbst **15**, 71, 1923; C. C. 1923, IV, S. 70.

[7]) *A. W. Thomas* und *M. W. Kelley*, Journ. Am. Chem. Soc. **44**, 197, 1922.

Am Schlusse möchten wir nicht verfehlen, Herrn Dr. *Manfred Dunkel* für die wertvolle Hilfe, die er uns bei der Durchführung dieser Arbeit geleistet hat, unseren besten Dank zu sagen.

## Versuche.

### I. Die isoelektrischen Punkte einiger Gelatinesorten.

(Vgl. auch die vorhergehende Arbeit S. 537 und 541.)

Die Dosierung der [H˙] und die Methoden zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes durch Kataphorese, Gelatinierungs- und Trübungsoptimum waren dieselben wie in der vorhergehenden Arbeit, nur die $p_H$-Messungen wurden *ausnahmslos potentiometrisch* durchgeführt.

*1. „Osmosierte" Scheidemandel-Gelatine C.*

(Wassergehalt 14,9 Proz., Asche 0,32 Proz., $p_H$ der 1proz. Lösung = 4,62.)

a) Kataphorese.

Zusammensetzung der Mittelflüssigkeit: 6 ccm n/10 Natriumacetat + *n* ccm n/10 Essigsäure + 10 ccm 2proz. Gelatine, das Ganze aufgefüllt auf 40 ccm Wasser, mit ½ g Zucker versetzt.

*Tabelle I.*

| Nr. | $n$ | $p_H$ berechnet | $p_H$ der Mittelflüssigkeit elektrometrisch gemessen | | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | vor Stromdurchgang | nach Stromdurchgang | |
| 1 | 1,61 | 5,2 | 5,13 | 5,16 | anodisch |
| 2 | 1,6 | 5,15 | — | 5,15 | anodisch |
| 3 | 1,7 | 5,12 | — | 5,09 | anodisch |
| 4 | 1,8 | 5,10 | 5,1 | 5,08 | anodisch, schwach kathodisch |
| 5 | 2,3 | 5,0 | 5,0 | 4,94 | anodisch, schwach kathodisch |
| 6 | 2,5 | 4,9 | 4,91 | 4,86 | anodisch, kathodisch |
| 7 | 4,0 | 4,75 | 4,87 | 4,77 | anodisch, kathodisch |
| 8 | 4,6 | 4,72 | 4,74 | 4,73 | kathodisch, Spur anodisch |
| 9 | 6,0 | 4,6 | — | 4,68 | kathodisch |
| 10 | 6,0 | 4,6 | — | 4,61 | kathodisch |

Es zeigte sich somit eine isoelektrische Zone von $p_H$ = 5,08 bis 4,73, also ein isoelektrischer Punkt bei etwa 4,9.

b) Trübungs- und Gelatinierungsoptimum.

*Tabelle II.*

| Nr. | $p_H$ elektrometrisch gemessen | Essigsäure | Na-Acetat | Wasser | 4½proz. Gelatine | Trübung | Gelatinierung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,05 | 1,6 | 3 | 19,4 | 9 | — | + |
| 2 | 5,0 | 1,3 | 3 | 19,7 | 9 | +++ | +++ |
| 3 | 4,81 | 1,7 | 3 | 19,3 | 9 | ++ | ++ |
| 4 | 4,76 | 2,1 | 3 | 18,9 | 9 | + | — |
| 5 | 4,6 | 3,1 | 3 | 17,9 | 9 | — | — — |

Der isoelektrische Punkt wurde hier bei $p_H$ = 5 gefunden.

*2. „Osmosierte" Scheidemandel-Gelatine B.*
(Wasser 14,4 Proz., Asche 0,26 Proz., $p_H$ der 1proz. Lösung = 4,72.)
a) Trübungs- und Gelatinierungsoptimum.

*Tabelle III.*

| Nr. | $p_H$ elektrometrisch gemessen | Essigsäure | Na-Acetat | Wasser | 4½ proz. Gelatine | Trübung | Gelatinierung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,2 | 0,5 | 3 | 20,5 | 9 | + | — |
| 2 | 4,98 | 1,3 | 3 | 19,7 | 9 | +++ | +++ |
| 3 | 4,96 | 0,8 | 3 | 20,2 | 9 | ++ | ++ |
| 4 | 4,72 | 2,8 | 3 | 18,2 | 9 | — — | — — |
| 5 | 4,6 | 4,0 | 3 | 17,0 | 9 | — | — |
| 6 | 4,5 | 5,5 | 3 | 15,5 | 9 | — — — | + |

Der isoelektrische Punkt zeigte sich etwa bei $p_H$ = 5.

*3. Osmosierte Scheidemandel-Gelatine A.*
(Wasser 13,9 Proz., Asche 0,1 Proz., $p_H$ der 1proz. Lösung = 4,8).
Trübungs- und Gelatinierungsoptimum.

*Tabelle IV.*

| Nr. | $p_H$ gemessen kolorimetrisch | $p_H$ gemessen elektrometrisch | Essigsäure | Acetat | Wasser | 4½ proz. Gelatine | Trübung | Gelatinierung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | — | 5,2 | 0 | 3 | 21,0 | 9 | — | — — — |
| 2 | — | 5,1 | 0,6 | 3 | 20,4 | 9 | ++ | + |
| 3 | — | 5,0 | 0,8 | 3 | 20,2 | 9 | +++ | +++ |
| 4 | 4,9 | 4,91 | 1,2 | 3 | 19,8 | 9 | +++ | ++ |
| 5 | — | 4,75 | 3,5 | 3 | 17,5 | 9 | + | + |
| 6 | — | 4,65 | 4,5 | 3 | 16,5 | 9 | + | + |
| 7 | — | 4,52 | 6,0 | 3 | 15,0 | 9 | — | — |

Isoelektrischer Punkt bei etwa $p_H$ = 5.

*4. Aussiger Gelatine M der Scheidemandel A.-G.*
(Wasser 14,03 Proz., Asche 3,23 Proz.)

Kataphorese.

Die Zusammensetzung der Mittelflüssigkeit wie bei der osmosierten Gelatine C.

*Tabelle V.*

| Nr. | Mittelflüssigkeit vor Stromdurchgang | Seitenflüssigkeit vor Stromdurchgang | Anodische Seitenflüssigkeit nach dem Stromdurchgang | Kathodische Seitenflüssigkeit nach dem Stromdurchgang | Mittelflüssigkeit nach Stromdurchgang | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5,2 | 5,23 | 5,29 | 5,12 | 5,21 | anodisch |
| 2 | 4,87 | 4,89 | 4,96 | 4,86 | 4,91 | anodisch |
| 3 | 4,82 | 4,83 | 4,87 | 4,80 | 4,85 | anodisch |
| 4 | 4,79 | 4,81 | 4.92 | 4,73 | 4,82 | anod., kathod. |
| 5 | 4,63 | 4,67 | 4,87 | 4,55 | 4,59 | kathodisch |

Aus den wenigen Werten ergibt sich doch deutlich eine isoelektrische Zone zwischen $p_H$ = 4,85 und 4,59, also ein isoelektrischer Punkt bei etwa $p_H$ = 4,72.

*5. „Victoria-Gelatine.“*

(Wasser 14,3 Proz., Asche 3,39 Proz., $p_H$ der 3proz. Lösung 5,17.)

Gelatinierungsoptimum.

*Tabelle VI.*

| Nr. | $p_H$ gemessen | Essigsäure | Acetat | Wasser | 10proz. Gelatine | Gelatinierung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 4,9 | 2,5 | 3 | 17,5 | 10 | + |
| 2 | 4,81 | 4 | 3 | 16,0 | 10 | ++ |
| 3 | 4,7 | 5,5 | 3 | 14,5 | 10 | — — |
| 4 | 4,6 | 5,5 | 3 | 14,5 | 10 | — |
| 5 | 4,45 | 7 | 3 | 13 | 10 | +++ |

Ein deutliches Gelatinierungsoptimum liegt in der Gegend von $p_H = 4{,}45$. Ein Trübungsversuch war wegen der schlechten Klärung dieser übrigens auch durch besonders geringe Viskosität und Gallertfestigkeit gekennzeichneten Sorte undurchführbar.

## II. Herstellung und Bestimmung des isoelektrischen Punktes dreier Hautgelatinen.

### *A. Hautpulvergelatine I.*

Zu ihrer Herstellung verwendeten wir ein weißes Analysenhautpulver[1]) der Freiberger Versuchsanstalt für Lederindustrie, Lieferung Nr. 129 vom 1. Juni 1920.

Die Konstanten des Präparates waren:

| | |
|---|---|
| Asche . . . . . . . . . . . . | 0,27 Proz. |
| Wasser . . . . . . . . . . . | 11 „ |
| Wasserbeständigkeit[2]) . . . . . | 1 „ |

34 g dieses Materials wurden mit einem Liter öfters gewechselten destillierten Wassers mehrere Stunden quellen gelassen, alsdann abgenutscht, auf Filtrierpapier getrocknet und fein zerrieben. 20 g wurden alsdann nach ausgiebiger Quellung mit 380 ccm destillierten Wassers von $p_H = 7$ bei gewöhnlicher Temperatur in einem Glaskolben mit Rückflußkühler 6 Stunden in einem siedenden Wasserbade erhitzt, die Brühe durch angewärmte Nutschen über Leinwand, dann, nochmals erwärmt, über Glas- und Baumwolle in ein Gelatinierungsgefäß filtriert[3]), ein Becherglas von etwa 300 ccm Inhalt mit Schliffdeckel und Vakuumhahn zum Ausgleichen des Druckunterschiedes beim Erkalten der

---

[1]) Die Hautpulver werden zwecks Härtung und Konservierung schwach mit Formaldehyd vorbehandelt. Die von uns verwendeten Präparate waren auf Wunsch des einen von uns durch das freundliche Entgegenkommen des Herrn Prof. *Paessler* in Freiberg ohne Formaldehydbehandlung hergestellt, was in der niedrigen „Wasserbeständigkeit“ auch zum Ausdruck kommt.

[2]) *W. Fahrion*, Chemiker-Zeitung **32**, 888, 1908.

[3]) *O. Gerngross* und *H. A. Brecht*, l. c.

Gallerte. Der Gelatinegehalt der Gallerte wurde mittels *Mikrokjeldahl*[1]) *nach J. Bang* bestimmt, unter Berücksichtigung eines Gehaltes von 18,1 Proz. Stickstoff in der Trockengelatine[2]). Der Bestimmung zufolge war die Gallerte 4,5 proz. Der $p_H$ der 1 proz. Lösung betrug 6,75.

Kataphorese der Hautpulvergelatine I.

Für die Pufferung auf $p_H$-Zahlen oberhalb 5,5 verwendeten wir Phosphatpuffergemische. Bei der Flockung der Gelatine mit Tannin nach den Kataphoresen in diesen dem Neutralitätspunkte sich nähernden Gebieten war es nötig, einige Tropfen verdünnter Essigsäure in die Seitenflüssigkeiten beim Nachweis der Wanderungsrichtung zu geben.

*Tabelle VII.*

| Nr. | $n$ | $p_H$ berechnet | $p_H$ der Mittelflüssigkeit gemessen | | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | vor Stromdurchgang | nach Stromdurchgang | |
| 1 | Phosphatpuffer | | 7,14 | 7,05 | anodisch |
| 2 | „ | | 6,64 | 6,76 | anodisch |
| 3 | „ | | 6,26 | 6,70 | anodisch |
| 4 | „ | | 6,09 | 6,1 | anodisch |
| 5 | 0,64 | 5,6 | 5,69 | 5,85 | anodisch |
| 6 | Phosphatpuffer | | 5,86 | 5,82 | anodisch, Spur kathodisch |
| 7 | 0,8 | 5,5 | 5,69 | 5,74 | schwach kathodisch |
| 8 | Phosphatpuffer | | 5,62 | 5,52 | anodisch und kathodisch |
| 9 | 0,7 | 5,6 | 5,55 | 5,48 | anodisch und kathodisch |
| 10 | 0,8 | 5,5 | 5,41 | 5,43 | Spur kathod., fast Stillstand |
| 11 | 1,3 | 5,3 | 5,4 | 5,41 | anodisch und kathodisch |
| 12 | 1,1 | 5,35 | 5,38 | 5,30 | anodisch und kathodisch |
| 13 | 1,6 | 5,3 | 5,26 | 5,24 | kathodisch |
| 14 | 1,6 | 5,2 | 5,22 | 5,26 | kathodisch |
| 15 | 3,5 | 5,0 | 5,07 | 5,08 | kathodisch |
| 16 | 4,04 | 4,86 | 4,88 | 4,88 | kathodisch |
| 17 | 5,2 | 4,65 | 4,76 | 4,76 | kathodisch |
| 18 | 8,0 | 4,50 | 4,53 | 4,53 | kathodisch |

Die isoelektrische Zone liegt zwischen $p_H = 5{,}82$ und 5,3, der isoelektrische Punkt bei $p_H = 5{,}55$.

*B. Hautpulvergelatine II.*

Das Rohmaterial, ein nicht mit Formaldehyd vorbehandeltes weißes Analysenhautpulver, Lieferung Nr. 301, Partie Nr. 15b vom 24. Februar 1921, hatte folgende Konstanten:

| | |
|---|---|
| Asche . . . . . . . . . . . | 0,33 Proz. |
| Wasser . . . . . . . . . . . | 10,86 „ |
| Wasserbeständigkeit . . . . . | 6 „ |

[1]) *O. Gerngross* und *W. Schaefer*, Zeitschr. f. angew. Chem. 1923, S. 391.
[2]) *v. Schroeder* und *J. Paessler*, Dingl. Polytechn. Journ. 287, 258, 283, 300, 1893.

Die Herstellung der Gelatine erfolgte im Centrallaboratorium der *Scheidemandel A.-G.* in ähnlicher Weise wie bei der Hautgelatine I, jedoch wurde zur Klärung Eialbumin verwendet. Der $p_H$ der auf 1proz. Gelatine verdünnten Lösung betrug 6,4.

*Tabelle VIII.*

| Nr. | n | $p_H$ berechnet | $p_H$ der Mittelflüssigkeit gemessen vor Stromdurchgang | nach Stromdurchgang | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,7 | 5,75 | 5,74 | 5,76 | anodisch |
| 2 | 1,2 | 5,6 | 5,66 | 5,64 | anodisch, Spur kathodisch |
| 3 | 1,4 | 5,5 | 5,44 | 5,42 | anodisch, kathodisch |
| 4 | 3,1 | 5,2 | 5,11 | 5,14 | anodisch, schwach kathodisch |
| 5 | 3,2 | 5,05 | 5,02 | 5,09 | anodisch, Spur kathodisch |
| 6 | 3,8 | 4,98 | 4,98 | 4,98 | kathodisch |

Aus den wenigen Werten ergibt sich immerhin deutlich die isoelektrische Zone von 5,64 bis 5,09 und ein isoelektrischer Punkt bei etwa $p_H = 5,4$.

*C. Hautgelatine aus einer arageäscherten Zickelblöße.*

Die enzymatisch geäscherte, schneeweiße, vollkommen intakte Blöße war zwecks Konservierung unter Chloroform zum Versand gelangt. Sie wurde zunächst gründlichst mit verdünntem Alkohol und Wasser gewaschen, dann mit einer Schere in möglichst kleine Stücke geschnitten. 57 g der Hautschnitzel wurden mit 215 g ½proz. Salzsäure 24 Stunden stehengelassen, alsdann die Säure von der außerordentlich stark gequollenen Haut abgegossen und diese so lange mit anfangs häufig gewechseltem destillierten Wasser gewaschen, bis die Schnitzel im Schnitt gegen Lackmus fast neutral reagierten. Sie wurden alsdann 24 Stunden unter 2 Liter Wasser aufbewahrt und alle diese Operationen zwecks Verhinderung von Fäulnis unter Toluol vorgenommen. Nachdem noch etwa vorhandene Säure durch wiederholtes Abgießen und Abpressen entfernt war, wurden die abgepreßten Schnitzel in einem Halbliter-Rundkolben mit Rückflußkühler gefüllt und mit 15 g destillierten Wassers ausgeschmolzen, wobei die Temperatur zunächst ½ Stunde bei 50°, dann 1½ Stunden auf 60 bis 70° und zum Schluß 1 Stunde lang bei 70 bis 80° gehalten wurde. Dieser *erste Sud* wurde durch ein auf einer *Witt*schen Platte im Dampftrichter befindliches Leinenfilter in das Gelatinierungsgefäß filtriert. Er war klar und von auffallend großem Gelatinierungsvermögen. Selbst 0,2proz. Lösungen gelatinierten rasch bei Zimmertemperatur. Der Gelatinegehalt betrug 9,5 Proz., der Aschegehalt der Trockengelatine 0,29 Proz., der $p_H$ der 1proz. Lösung 6,52.

Der auf dem Filter zurückbleibende Rückstand — 40 g — wurde mit 40 g destillierten Wassers 1 Stunde über freier Flamme am Rückflußkühler unter andauerndem Schütteln, um ein Anbrennen zu vermeiden.

gekocht. Bei Beginn des Siedens trat eine Trübung vielleicht infolge der Koagulation eines das Glutin verunreinigenden Eiweißkörpers auf. Dieser *zweite Sud* wurde wie beschrieben filtriert und zeigte einen Gelatinegehalt von 8,15 Proz. und $p_H = 6,63$.

Ein *dritter Sud* wurde durch einstündiges Verkochen des Filterrückstandes von 27 g mit 27 g destillierten Wassers und Filtrieren gewonnen. Er war in dickerer Schicht von grauer Farbe, zeigte im Vergleich zum ersten Sud beträchtlich verringertes Gelatinierungsvermögen, enthielt 4,09 Proz. Trockengelatine und hatte in 1 proz. Lösung $p_H = 6,65$. Auch der offensichtlich die Hauptmenge des Narbenteils enthaltende Rückstand des dritten Sudes ergab beim Verkochen noch Gelatine, auf deren Untersuchung verzichtet wurde. Alle drei Sude wurden zwecks Konservierung nach $^1/_4$stündigem Erhitzen auf 85° unter Toluol aufbewahrt, wobei sie sich wochenlang unverändert hielten.

Kataphorese der Zickelhautgelatine.

*Tabelle IX.*

| Nr. | $p_H$ v. d. Stromdurchgang | | $p_H$ nach dem Stromdurchgang | | | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mittelflüssigkeit | Seitenflüssigkeit | anodische Seitenflüssigkeit | kathodische Seitenflüssigkeit | Mittelflüssigkeit | |
| 1 | 7,31 | 7,31 | 7,3 | 7,33 | 7,20 | anodisch |
| 2 | 6,34 | 6,32 | 6,36 | 6,31 | 5,36 | anodisch |
| 3 | 5,91 | 5,93 | 5,95 | 5,77 | 5,92 | anodisch |
| 4 | 5,72 | 5,72 | 5,85 | 5,67 | 5,75 | anodisch |
| 5 | 5,70 | 5,69 | 5,72 | 5,65 | 5,71 | anodisch |
| 6 | 5,60 | 5,60 | 5,68 | 5,51 | 5,60 | anodisch, kathodisch |
| 7 | 5,50 | 5,51 | 5,62 | 5,48 | 5,48 | anodisch, Spur kathodisch |
| 8 | 5,40 | 5,42 | 5,56 | 5,24 | 5,42 | fast Stillstand |
| 9 | 5,36 | 5,35 | 5,42 | 5,23 | 5,33 | kathodisch |
| 10 | 5,30 | 5,30 | 5,44 | 5,22 | 5,33 | schwach kathodisch |
| 11 | 5,10 | 5,10 | 5,16 | 5,01 | 5,04 | kathodisch |
| 12 | 4,89 | 4,89 | 4,96 | 4,80 | 4,89 | kathodisch |

Isoelektrische Zone von $p_H = 5,42$ bis 5,6, also isoelektrischer Punkt etwa bei $p_H = 5,55$.

Erstarrungsoptimum der Zickelhautgelatine.

Als Gelatinekonzentration mußte 1 Proz. gewählt werden, da in der sonst üblichen höheren Konzentration schon bei gewöhnlicher Temperatur fast augenblicklich Erstarrung eintrat.

*Tabelle X.*

| Nr. | $p_H$ gemessen | Gelatinierung |
|---|---|---|
| 1 | 5,92 | + |
| 2 | 5,62 | ++ |
| 3 | 5,47 | +++ |
| 4 | 5,37 | +++ |
| 5 | 5,27 | — |

Das Gelatinierungsoptimum liegt in der Gegend von $p_H = 5,4$ bis 5,5.

### III. Bestimmung des isoelektrischen Punktes von hydrolytisch abgebauter Gelatine.

29,87 g osmosierte Gelatine C, entsprechend 25 g Trockensubstanz, wurden in 220,13 ccm Wasser über Nacht stehengelassen, in einen Rundkolben mit Glasschliffkühler unter Schütteln durch 15 Minuten langes Erhitzen auf dem Wasserbade gelöst und dann 5 Stunden lang auf kochendem Wasserbade hydrolysiert. Der tatsächlich erfolgte Abbau der Gelatine wurde durch das Sinken der Viskositäts- und Gallertfestigkeitszahlen bewiesen:

| | |
|---|---|
| Viskosität vor der Hydrolyse . . . . . . . . | 1,86 |
| ,, nach ,, ,, . . . . . . . . | 1,36 |
| Gallertfestigkeit vor der Hydrolyse. . . . . . | 600 g |
| ,, nach ,, ,, . . . . . | 200 g |

Der isoelektrische Punkt wurde hier durch einen Trübungs- und Erstarrungsversuch bestimmt, wobei 10 ccm der 10proz. Gelatinelösung mit 23 ccm der Pufferwassergemische vermengt waren.

Trübungs- und Erstarrungsversuch.

*Tabelle XI.*

| Nr. | $p_H$ gemessen | Trübung | Gelatinierung |
|---|---|---|---|
| 1 | 5,37 | + | + |
| 2 | 5,20 | — — | ++ |
| 3 | 5,09 | +++ | + |
| 4 | 4,91 | +++ | +++ |
| 5 | 4,86 | + | — |
| 6 | 4,79 | — | — — — |
| 7 | 4,72 | — — — | + |

Die nicht abgebaute Gelatine zeigte einen isoelektrischen Punkt bei $p_H$ = 4,95, die abgebaute zeigte den gleichen Wert, nämlich 4,9 bis 5,0.

Kataphorese des dritten Sudes der Zickelhautgelatine.

Ein orientierender Versuch dieser im Vergleich zum ersten Sude gewiß hydrolytisch abgebauten Gelatine ließ mit seiner absolut klaren kathodischen Wanderungsrichtung bei $p_H$ = 5,37 gleichfalls auf keine wesentliche Veränderung des isoelektrischen Punktes schließen.

*Tabelle XII.*

| Nr. | $p_H$ vor Stromdurchgang | | $p_H$ nach Stromdurchgang | | | Wanderungsergebnis |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mittelflüssigkeit | Seitenflüssigkeit | anodische Seitenflüssigkeit | kathodische Seitenflüssigkeit | Mittelflüssigkeit | |
| 1 | 5,32 | 5,34 | 5,55 | 5,24 | 5,37 | kathodisch |
| 2 | 5,53 | 5,57 | 5,67 | 5,46 | 5,57 | anodisch |
| 3 | 5,71 | 5,72 | 5,81 | 5,69 | 5,74 | anodisch |

# Eine neue Form der Umwandlung des Acetaldehyds durch gärende Hefe[1]).

VI. Mitteilung über Carboligase.

Von

**C. Neuberg und E. Reinfurth.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Nach Auffindung der *zuckerfreien Gärungen* sind *Neuberg* und seine Mitarbeiter alsbald zur Bearbeitung der Frage geschritten, welchen *biochemischen Veränderungen der Acetaldehyd*, das carboxylatische Zerlegungsprodukt der Brenztraubensäure, anheimfallen kann. Schon bei den ersten Versuchen, den auf dem Gärungswege gebildeten Acetaldehyd mit dem so nahe verwandten Weingeist und dadurch die Erscheinung der Brenztraubensäuregärung mit dem Prozeß der alkoholischen Zuckerspaltung in Beziehung zu setzen, haben *C. Neuberg* und *Joh. Kerb*[2]) auf den Übergang des Acetaldehyds in Äthylalkohol unter dem Einflusse von lebender Hefe aufmerksam gemacht. Dieselben Autoren haben kurz darauf dargetan[3]), daß es sich nicht um eine einfache Reduktion des Acetaldehyds zu Sprit handelt, sondern daß noch andere Umsetzungen des Acetaldehyds in Frage kommen, wie Eintritt der Cannizzaroschen Reaktion, Aldolbildung und anderes mehr. Im weiteren Verlaufe der Gärungsstudien wurden darauf die Beweise erbracht, daß diesen Umwandlungen des Acetaldehyds eine beträchtliche physiologische Bedeutung zukommt. Während es uns bei Verwirklichung der zweiten Vergärungsform[4]), bei der Spaltung des Zuckers in Acetaldehyd, Glycerin und Kohlendioxyd, ($C_6H_{12}O_6 = CH_3 . COH + CO_2 + C_3H_8O_3$) gelang, den *Acetaldehyd* mit Hilfe des Abfangverfahrens bis zu 80 Proz. der theoretischen Möglichkeit *in Substanz*

---

[1]) Mitgeteilt am 27. September 1923 im Vortrage „Moderne Fragen der Gärungschemie“ auf der Versammlung deutscher Chemiker in Jena.

[2]) *C. Neuberg* und *Joh. Kerb*, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 114, 1912.

[3]) *Dieselben*, diese Zeitschr. **58**, 158, 1913.

[4]) *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, ebendaselbst **89**, 365 u. 413, 1918; **92**, 234, 1918; *H. Kumagawa*, ebendaselbst **131**, 148, 1922.

zu fassen, findet seine *Dismutation* zu Äthylalkohol und Essigsäure in großem Umfange und in streng stöchiometrischem Verhältnis bei der dritten Art der Zuckerspaltung[1]) statt; diese liefert Äthylalkohol, Essigsäure, Glycerin sowie Kohlensäure, und zwar durch eine in alkalischer Umgebung sich vollziehende fermentative „Cannizzarierung" des zunächst — wie bei der zweiten Vergärungsform — erzeugten Acetaldehyds ($2\,C_6H_{12}O_6 + H_2O = C_2H_5.OH + CH_3.COOH + 2\,CO_2 + 2\,C_3H_8O_3$). Die *Aldolisierung des Acetaldehyds* trat sodann der Form nach bei der Buttersäuregärung[2]) zutage, zugleich mit der Fähigkeit des Kondensationsproduktes zur *Saccharinumlagerung*. Wieder eine neue Umsetzungsmöglichkeit offenbarte sich bei der *carboligatischen Nutzung von Acetaldehyd*; sie besteht darin, daß der *Acetaldehyd sich* an ein anderes Aldehydmolekül *acyloinmäßig anlagert*. Diese Bindung des Acetaldehyds ist bei der Vergärung von *Zucker oder von Brenztraubensäure* in Gegenwart von Benzaldehyd zuerst aufgefunden[3]); es entsteht ein benzoinartiges Gebilde aus Bittermandelöl und Acetaldehyd; die gleiche Fixierung[4]) konnte dann auch bei der Vergärung allein von Brenztraubensäure festgestellt werden, wobei neben carboxylatisch gebildetem Acetaldehyd sein carboligatisch erzeugtes Dimeres, das als einfachstes Acyloin anzusprechende Dimethylketol, auftritt.

Nachdem dann neuerdings im hiesigen Institute auch für Gewebe des Kaltblüters[5]) sowie namentlich des Warmblüters[6]) die Fähigkeit zur Bildung von Acetaldehyd und somit die zentrale Stellung des Acetaldehyds im Getriebe der Abbauvorgänge nachgewiesen ist, erwuchs gebieterisch die Notwendigkeit, das biochemische Verhalten dieses so wandlungsfähigen Stoffes in pflanzlichen und tierischen Zellen einer vertieften Prüfung zu unterwerfen.

Zunächst berichten wir von *neuen Erfahrungen über das Schicksal des Acetaldehyds im Verlaufe der Gärung.*

Den Ausgangspunkt für diese Untersuchungen gab die alte Beobachtung von *C. Neuberg* und *Joh. Kerb*[7]) ab, daß bei Digestion von Hefe mit Acetaldehyd von letzterem mehr verschwindet, als seiner

[1]) *C. Neuberg* und *J. Hirsch*, diese Zeitschr. **96**, 175, 1919; **100**, 304, 1919; *C. Neuberg* und *W. Ursum*, ebendaselbst **110**, 193, 1920.

[2]) *C. Neuberg* und *B. Arinstein*, ebendaselbst **117**, 269, 1921.

[3]) *C. Neuberg* und *J. Hirsch* (Carboligase I.), ebendaselbst **115**, 282, 1921; *C. Neuberg* und *L. Liebermann* (Carboligase II.), ebendaselbst **121**, 311, 1921; *C. Neuberg*, Zeitschr. f. angew. Chem. **35**, 90, 1922.

[4]) *J. Hirsch* (Carboligase V.), diese Zeitschr. **131**, 178, 1922; *C. Neuberg* und *A. v. May*, ebendaselbst **140**, 299, 1923.

[5]) *J. Hirsch*, diese Zeitschr. **134**, 415, 1922.

[6]) *C. Neuberg* und *A. Gottschalk*, Klin. Wochenschr. **2**, 1458, 1923; *C. Neuberg*, *A. Gottschalk* und *H. Strauß*, Deutsch. med. Wochenschr. **49**, 1407, 1923.

[7]) *C. Neuberg* und *Joh. Kerb*, ebendaselbst **58**, 169, 1913.

Dismutation und dem Alkoholzuwachs entspricht. Die Autoren hatten im Hinblick hierauf der Ansicht Ausdruck verliehen, daß verschiedene Umformungen im Spiele seien.

Wie ganz unvollständig unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete bisher sind, ergibt sich aus divergierenden Angaben verschiedener Forscher. So hatten *A. Trillat* und *B. Sauton*[1]) mitgeteilt, daß kleine Mengen von Acetaldehyd bei Berührung von *Alkohol* mit Hefe erzeugt und allem Anscheine nach durch Übergang in Essigsäure und Essigester wieder verbraucht werden. Weiter liegen Mitteilungen von *S. Kostytschew* und *E. Hübbenet*[2]) vor, denen zufolge eine einfache Reduktion des Acetaldehyds zu Weingeist eintritt, wenn man mit lebender oder abgetöteter Hefe arbeitet; mit Mazerationssaft schien die Hydrierung nur in Gegenwart von Zucker, also bei gleichzeitiger Gärung, möglich. *A. v. Lebedew* und *N. Griasnoff*[3]) sowie *A. v. Lebedew*[4]) erhoben hingegen den bemerkenswerten Befund, daß gerade bei zellfreier Vergärung von Zucker hinzugefügter Acetaldehyd nicht zu Alkohol reduziert wird, während dies bei Abwesenheit von Saccharose der Fall ist. Die erstgenannten Autoren[5]) bestätigten alsdann die Wirkung von ungezuckertem Hefensaft auf Acetaldehyd, behaupteten aber, daß die Reduktion zu Sprit auch bei Zusatz von Zucker geschehe. Nun hatten *F. Battelli* und *L. Stern*[6]) die wichtige Entdeckung gemacht, daß tierische Zellen den Acetaldehyd nach dem Schema der Cannizzaroschen Reaktion disproportionieren, und zu demselben Ergebnis war *J. Parnas*[7]) gelangt. In Analogie hierzu hat dann *S. Kostytschew*[8]) einen gleichen Mechanismus für die Aldehydverarbeitung durch die Hefezellen angenommen, dergestalt daß der Äthylalkohol aus Acetaldehyd nicht durch eine Hydrierung, sondern durch Dismutation hervorgeht. Er erkannte jedoch, daß diese Deutung nicht unter allen Umständen zulässig ist und daß insbesondere das molekulare Verhältnis von Alkohol und Essigsäure keineswegs immer obwaltet; er schloß sich daher den Darlegungen von *C. Neuberg* und *J. Kerb*[9]) an, daß ein Teil des Acetaldehyds noch auf andersartige Weise umgewandelt werden muß.

Eine Kondensationsreaktion des Acetaldehyds, die sich in vitro nicht herbeiführen läßt, hatte nun *Neuberg* schon vor vielen Jahren[10]) in den Kreis der biochemischen Betrachtungen gerückt, die *Acetoinbildung*. Freilich ohne experimentellen Beweis[11]) war damals die Möglich-

[1]) *A. Trillat* und *B. Sauton*, C. r. **147**, 77, 1908; Ann. de l'Inst. Pasteur **24**, 310, 1910.

[2]) *S. Kostytschew* und *E. Hübbenet*, H. **79**, 359, 1913.

[3]) *A. v. Lebedew* und *N. Griasnoff*, Ber. **45**, 3262, 1912.

[4]) *A. v. Lebedew*, Ber. **46**, 850, 1913.

[5]) *S. Kostytschew* und *E. Hübbenet*, H. **85**, 408, 1913.

[6]) *F. Battelli* und *L. Stern*, diese Zeitschr. **28**, 145, 1910.

[7]) *J. Parnas*, ebendaselbst **28**, 274, 1910.

[8]) *S. Kostytschew*, H. **89**, 367 und **92**, 413, 1914.

[9]) *C. Neuberg* und *Joh. Kerb*, l. c.

[10]) *C. Neuberg*, C., Oppenheimers Handb. d. Biochem. **1**, 225, 1908; Ergänzungsband dazu, S. 609, 1913.

[11]) Die Entstehung des zugehörigen *Glykols*, des $\beta,\gamma$-Di-oxy-butans, $CH_3 . CHOH . CHOH . CH_3$, ist später von *E. Paternò*, *G. Chieffi* und

keit angenommen, daß sich zwei Moleküle Acetaldehyd acyloinmäßig zum Acetoin $CH_3 . COH + HOC . CH_3 = CH_3 . \overset{*}{C}HOH . CO . CH_3$ zusammenschließen. Erst viel später hat die Auffindung der *Carboligase* (1921) die Berechtigung für eine solche Herleitung geliefert.

Als Leistung der Carboligase kennen wir bisher folgenden Vorgang: Sie vermag den Acetaldehyd, der als Zwischenstufe bei der Vergärung von Zucker, oder als Endprodukt bei der Vergärung von Brenztraubensäure auftritt, an einen zugefügten fremden Aldehyd, z. B. Benzaldehyd, zu knüpfen, so daß ein gemischtes, aus Acetaldehyd + Benzaldehyd zusammengefügtes Acyloin ($C_6H_5 . CHO + HOC . CH_3 = C_6H_5 . \overset{*}{C}HOH . CO . CH_3$) zum Vorschein kommt; ganz der gleiche Mechanismus liegt der Entstehung des einfachen Butanolons bei der Pyruvinatgärung zugrunde, indem aus der Brenztraubensäure abgespaltener Acetaldehyd sich mit naszierendem Acetaldehyd vereinigt. Nach den bisherigen Erfahrungen liefert also *in Umwandlung begriffener Zucker oder zerfallende Brenztraubensäure* den Acetaldehyd für die carboligatische Verwendung. *Dieses bedeutet, wie wir früher mehrfach ausgeführt haben, die Umkehrung eines oxydativen Spaltungsprozesses in die Richtung des enzymatischen Wiederaufbaus längerer Kohlenstoffketten.* Mit fertigem Acetaldehyd allein ist diese biochemische Kern-Synthese noch nicht gelungen. Auch bei der Vergärung von reinem Zucker durch Hefe ist niemals die Anwesenheit von Acetoin konstatiert worden. In dem wunderbar abgestimmten System von korrelativen Oxydations- und Reduktionserscheinungen, das bei der normalen alkoholischen Zuckerspaltung balanciert, ist für die Bildung des Methylacetols kein Raum; denn dieser Körper stellt ja ein Oxydationsprodukt dar, da er formelgemäß aus zwei Molekülen Acetaldehyd zusammengesetzt ist.

---

*G. Perret* (Chem. Centralbl. **1914**, I, 2150) bei Belichtung einer alkoholischen Aldehydlösung wahrscheinlich gemacht worden. *R. Ciusa* und *A. Milani* (Chem. Centralbl. **1914**, I, 957; **1915**, I, 1109) haben dieselbe Verbindung (neben viel $\alpha, \gamma$-Di-oxy-butan) bei der Reduktion von Acetaldehyd in ätherischer Lösung mittels Magnesium-amalgam gewonnen, und nach einem Patente der Farbenfabriken vorm. *Fr. Bayer & Co.* (Chem. Centralbl. **1914**, II, 674) tritt sie auch bei der Elektrolyse von Acetaldehyd in sauren Medien an metallischen Kathoden auf. Diese Bildungsweisen des Dimethyl-äthylenglykols stellen „Pinakonreaktionen" dar. Daß aus Essigester mittels Natriummetall über das *Buten-di-enolat* $CH_3 . C(ONa) : C(ONa) . CH_3$ auch Acetoin erhalten werden kann, sei in diesem Zusammenhange erwähnt. Eine Erklärung dieses Reaktionsverlaufes haben *L. Bouveault* und *R. Locquin* (Chem. Centralbl. **1916**, II, 1113) gegeben; sie ist im Hinblick auf die bekannten Arbeiten von *W. Schlenk* (vgl. Ber. **46**, 2850, 1913) über die Metall-ketyle und die Ergebnisse von *H. Scheibler* (Zeitschr. f. angew. Chem. **35**, 575, 1922) wohl zu modifizieren.

*Diese Beziehungen ändern sich nun mit einem Schlage, wenn man die Vergärung von Zucker durch Hefe in Gegenwart von Acetaldehyd ablaufen läßt. Der zugefügte Acetaldehyd ist* — genau wie das früher für hinzugegebenen Benzaldehyd dargetan wurde — *befähigt, aus dem Zucker naszierenden Acetaldehyd „herauszuziehen", ihn abzufangen und mit ihm die carboligatische Vereinigung zum Acetoin einzugehen.* Wir sind dazu gelangt, die *Ausbeute an Acetoin bis 100 Proz. vom Gewichte des angewendeten Acetaldehyds* zu treiben. Die *optische Aktivität* des auftretenden Produktes und seines Semikarbazons *bezeugt ohne weiteres den biochemischen Charakter der Synthese,* ganz abgesehen davon, daß ja, wie zuvor erwähnt, sich die Acyloinreaktion am Acetaldehyd nicht freiwillig vollzieht.

Die mit rein chemischen Mitteln zustande kommende Kondensation ist dagegen die Aldolisierung. Sie tritt sogar erheblich schneller und deshalb in ungleich größerem Ausmaße als die Dismutation ein, wie *A. Lieben*[1]) beobachtet und *H. Hammarsten*[2]) durch genaue Messungen dargetan hat. *Auch im Hinblick hierauf erscheint der am Acetaldehyd sich abspielende biochemische Hergang, der zu einer ganz anders konstituierten Substanz führt, nicht ohne Interesse.*

Es bestünde nun noch die Möglichkeit, daß an der Erzeugung des Acetoins nicht der auf dem Gärungswege gebildete Acetaldehyd teilnimmt, sondern daß zwei Moleküle des von vornherein der Hefezelle dargebotenen Acetaldehyds durch einen physiologischen Vorgang aneinander gelagert würden. Gegen diese Deutung sprechen die Ausbeuten wie die Ergebnisse der Versuche, in denen Lösungen von Acetaldehyd allein mit Hefe (ohne Zucker) digeriert wurden; dabei stellte sich wohl allmählich Acetoin ein, aber zumeist in verhältnismäßig geringer Menge, so daß wir in diesen Fällen vorerst eine Mitwirkung von Kohlenhydraten der Hefe annehmen möchten. Zugleich spricht gegen eine alleinige Acyloin-kondensation fertigen Acetaldehyds der Umstand, daß der Acetaldehyd in gärenden Zuckerlösungen schnell Acetoin bildete, in zuckerfreien Ansätzen aber lange unverändert blieb und niemals vollständig verschwand. Beachtenswert war vor allem das Ergebnis der Experimente mit Hefemazerationssaft, der frei von selbstgärenden Zuckerarten ist. Ein solcher Saft bringt für sich in Berührung mit Acetaldehyd kein Acetoin hervor. Kann sich der Hefensaft aber an zugefügtem Zucker zymatisch betätigen, so lenkt der zugesetzte Acetaldehyd den im Gärungsverlauf als Zwischenstufe auftretenden Acetaldehyd auf sich ab und liefert damit das Acetoin.

Wir werden jedoch die Bemühungen nicht aufgeben, mit Acetaldehyd und anderen Aldehyden allein carboligatische Aneinanderreihung zu er-

[1]) *A. Lieben*, M. 22, 289, 1901.
[2]) *H. Hammarsten*, Ann. 420, 262, 1920; 421, 293, 1921.

zielen, und wollen auch weiter auf Nebenprodukte fahnden, für deren Vorhandensein wir bisweilen Anhaltspunkte gefunden zu haben glauben.

Erleichtert wird die Anstellung der *Versuche*, deren Beschreibung wir uns nun zuwenden, durch die Tatsache, daß der Acetaldehyd für lebende Hefenzellen offenbar viel weniger giftig ist, als man bisher geglaubt hatte. Denn weder die Gärung durch Brennerei- noch Brauereihefe wurde verhindert oder auch nur mehr als vorübergehend abgeschwächt, wenn die Maische bis 1,7 Proz. Acetaldehyd enthielt. Der Zucker, dessen Menge fünf- bis siebenmal größer war als die des Acetaldehyds, wurde bei Zimmertemperatur vollständig umgesetzt. Um festzustellen, in welchem Zustande sich die Hefe am Schluß des Gärprozesses befand, wurde sie in einem Versuch nach völligem Verbrauch des Acetaldehyds und des Zuckers abgeschleudert, auf der Zentrifuge dreimal mit Wasser gewaschen und jetzt in reine Saccharoselösung gebracht. Nach kurzer Zeit war eine kräftige und normale Gärung im Gange.

Die Versuche wurden teils mit *Traubenzucker*, teils mit *Fructose* und *Rohrzucker* vorgenommen. Da bei den beiden letztgenannten Kohlenhydraten das Ende der Gärung polarimetrisch nicht ohne weiteres zu ermitteln ist — das im Gärgut vorhandene Acetoin ruft nämlich immer eine Linksdrehung hervor und reduziert *Fehling*sche und *Ost*sche Kupfersalz-mischungen —, so wurden die Untersuchungen zunächst mit Glucose ausgeführt. Die Gärdauer belief sich bei Zimmertemperatur in der Regel auf eine Woche; sobald der Drehungswert konstant blieb und in einer kleinen Probe nach erneuter Hefezugabe keine Kohlendioxyd-entwickelung mehr zu erkennen war[1]), wurde das Gärgut aufgearbeitet.

Wir berichten über drei Gruppen von Versuchen: a) *Ansätze mit Bierhefe*, b) *Ansätze mit Brennereihefe*, c) *Ansätze mit Hefemazerationssaft*. Zu jeder Gruppe gehörten jeweils Ansätze mit Rohr- bzw. Traubenzucker oder Fructose und Acetaldehyd, sowie eine entsprechende Kontrolle, in der Hefe und Acetaldehyd allein unter gleichen Bedingungen wie der Hauptversuch digeriert wurden.

Hervorragende Ausbeuten an Acetoin wurden mit Unterhefe erreicht.

Bäckerhefe blieb beträchtlich in ihren Leistungen hinter der untergärigen Hefe zurück, was wohl damit zusammenhängt, daß die uns zur Verfügung stehenden Branntweinhefen bis zu 90 Proz. Torula enthielten; diese braucht wahrscheinlich den hinzugegebenen Acetaldehyd oder das entstandene Acetoin auf. Außerdem waren die

[1]) Zugefügter Zucker wurde von neuem vergoren, Hemmungskörper sind also nicht zugegen.

Brennereihefen nie ganz frei von Kahmhefen; wir konnten in einigen Fällen, in denen starke Kahmhautbildung auftrat, konstatieren, daß praktisch überhaupt kein Acetoin vorhanden war. Mit einer reinen Oberhefe, die wie eine untergärige Sorte gezüchtet war, erhielten wir dagegen ein mindestens so günstiges Resultat wie mit der untergärigen Brauereihefe.

Der Umsatz des Zuckers ging in Hefemazerationssäften, im Vergleich zu seinem Verbrauch in Versuchen mit lebenden Hefen, langsam vonstatten. Der zugemischte Acetaldehyd rief öfter eine schwache Trübung hervor. Um die Gärung möglichst zu Ende zu bringen, waren wiederholte Nachfüllungen von neu bereitetem Saft notwendig. Der zugefügte Acetaldehyd schützte übrigens die leicht verderblichen Eiweißsubstanzen des Hefesaftes vor Fäulnis. Die zellfreien Ansätze wurden im Brutschrank bei 30° belassen. Zur Kontrolle wurde sowohl reiner Hefesaft mit der im Hauptversuch angewandten Acetaldehydquantität, als auch in der Wärme zur Koagulation gebrachter Hefesaft mit Acetaldehyd digeriert, nachdem noch geringe Mengen seiner Dismutationsprodukte Essigsäure und Weingeist hinzugegeben waren.

Die Untersuchungen erstreckten sich lediglich auf die Feststellung, wieviel Acetoin in einem Gärmedium entstanden war. Auf die phytochemische Reduktion desselben zum 2,3-Butylenglykol, die möglich erscheint[1]), sowie auf andere Umwandlungsprodukte des Acetaldehyds, der aus den zuckerhaltigen Ansätzen vollständig verschwand, ist vorläufig keine Rücksicht genommen. Mehrfach haben wir für die zuckerfreien Kontrollen angenähert ermittelt, wieviel unveränderter Acetaldehyd, der auf dem Destillationswege abgetrennt wurde, noch vorhanden war. Diese Bestimmungen sind deshalb nicht genau, da der zugefügte Acetaldehyd zum Teil mit dem entwickelten Kohlensäuregas entweicht. Aus dem gleichen Grunde sind auch die Acetoinausbeuten in Wirklichkeit noch höher zu veranschlagen, da ja ein sich verflüchtigender Teil des Acetaldehyds der carboligatischen Bindung entzogen wird.

Die *Aufarbeitung* geschah nach folgender Methode:

a) *Bei den Versuchen mit lebenden Hefen* mißt man zunächst das Gesamtvolumen des Gärgutes. Dann wird von der Hefe abfiltriert und in einem aliquoten Teile der klaren Flüssigkeit einfach mittels p-Nitrophenyl-hydrazin das Osazon des Acetoins abgeschieden[2]). Hierzu

[1]) *C. Neuberg* und *F. F. Nord*, Ber. **52**, 2248, 1918.

[2]) Als ein die Ausbeuten fälschender Fehler kommt der Umstand nicht in Betracht, daß gelegentlich Hydrazone der einfachen Aldehyde durch Oxydation Osazone von Diketonen liefern können (*F. R. Japp* und *F. Klingemann*, Ann. **247**, 222, 1888; *H. v. Pechmann*, Ber. **30**, 2459, 1897; **31**, 2123, 1898; *H. Biltz*, Ann. **305**, 167, 1899). Diese Reaktion tritt beim

verwendet man 20 Proz. mehr p-Nitrophenyl-hydrazin, als dem in der verarbeiteten Flüssigkeitsmenge ursprünglich vorhandenen Aldehydquantum entspricht. Nach $2\frac{1}{2}$stündigem Erhitzen in essigsaurer-alkoholischer Lösung im siedenden Wasserbade ist das Osazon des Acetoins in Kristallen ausgefallen, die zunächst violett- oder braun-rot sind. Sie werden abgesaugt und gründlich mit Alkohol sowie Äther gewaschen. Der durch seine Höhe ausgezeichnete Schmelzpunkt dieses Osazons lag gewöhnlich für das Rohprodukt zwischen 308 und 316°; es war schon nahezu rein. Die Substanz wurde aus Pyridin und Eisessig umkristallisiert und verflüssigte sich dann bei 318 bis 320°.

Bei den Kontrollansätzen, wo die Nitroprussidnatrium-probe im Destillat einiger Kubikzentimeter positiv ausfiel, trieben wir unter üblichen Vorsichtsmaßregeln den unangegriffenen Acetaldehyd über und bestimmten ihn durch Abscheidung als *Aldomedon*.

Das Acetoin wurde zur weiteren Identifizierung auch gelegentlich in sein Phenylosazon übergeführt, und zwar in der gleichen Weise, die wir für die Darstellung des p-Nitro-phenylosazons befolgten. Es resultierte ein hellgelbes Produkt vom F. 243 bis 245°, wie er dem Phenyl-osazon des Acetoins zukommt. Die Osazone wurden durch Elementaranalysen identifiziert.

b) Die *Aufarbeitung der Saftversuche* ist etwas umständlicher, da zuerst die anwesenden Proteine und die Hauptmenge ihrer enzymatischen Abbauprodukte entfernt werden müssen. Zu diesem Behufe wird das Gärgut 1 Stunde am Energie-Rückflußkühler im siedenden Wasserbade erhitzt und nach dem Erkalten vom Eiweißgerinnsel durch Absaugen befreit. Die noch in Lösung befindlichen stickstoffhaltigen Verbindungen werden sodann mit viel absolutem Alkohol so vollständig wie möglich niedergeschlagen, da sie das Ausfallen der Osazone beeinträchtigen[1]). Dazu ist mindestens die vierfache Menge absoluten Alkohols erforderlich. Darauf wird abermals vom Niederschlage getrennt und nunmehr im Filtrat mit p-Nitro-phenylhydrazin das Osazon abgeschieden, wie im vorausgehenden beschrieben worden ist. Der Körper kommt aus dem Hefemazerat nicht ohne weiteres so rein heraus wie bei den Versuchen mit lebenden Hefen. Zur Gewinnung von Analysensubstanz wird das Rohosazon zunächst mit reichlich Pyridin in der Wärme in Lösung gebracht; nach dem Filtrieren engt man im Vakuum stark ein, derart daß eben noch keine Kristallisation von Acetoin-p-nitro-phenylosazon

---

Zusammenbringen von Acetaldehyd mit p-Nitro-phenylhydrazin oder gewöhnlichem Phenylhydrazin jedenfalls unter unseren Versuchsbedingungen nicht ein. Auch davon abgesehen, sind in den Hauptexperimenten, den Gäransätzen mit Zucker und Acetaldehyd, zum Schluß beide Ingredienzien vollständig verbraucht (vgl. S. 561 u. ff).

[1]) *C. Neuberg*, H. **29**, 274, 1900.

erfolgt. Letzteres wird durch Zugabe von absolutem Alkohol ausgefällt. Dieses Vorgehen hat den Zweck, eventuell vorhandene kleine Mengen der Glucoseverbindung, die aus nicht vergorenen Zuckerresten herrühren kann, in Lösung zu halten und dadurch vom Derivat des Acetoins zu trennen. Letzteres wird aus dem Pyridin-Alkohol-Gemisch abgesaugt und auf die übliche Weise umkristallisiert; es zeigte dann den richtigen Schmelzpunkt von 317°, während sich d-Glucose-p-nitro-phenylosazon 60° niedriger, nämlich bei 257°, zersetzt. Für die ungezuckerten Kontrollversuche mit Hefensaft wählten wir die gleiche Art der Aufarbeitung.

### A. Ansätze mit untergäriger Hefe.

*1. Versuch mit Glucose und 20 Proz. Acetaldehyd*[1]).

25 g Glucose wurden in 250 ccm Wasser gelöst und mit 50 g Patzenhofer Bierhefe versetzt. Nach dem Eintritt starker Gärung wurden im Verlaufe von einer halben Stunde 50 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung = 5 g Acetaldehyd (oder 20 Proz. vom benutzten Zucker) hinzugefügt. Das Gemenge wurde unter öfterem Umschütteln bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Gärung schritt gleichmäßig fort. Ihr Aufhören wurde durch das Ausbleiben erneuter Gärtätigkeit nach weiterer Hefezugabe sowie an dem gleichbleibenden Drehungswert des Gärgutes = — 1,1° im 2-dcm-Rohr erkannt. Schon nach 24 Stunden war kaum noch ein Geruch nach Acetaldehyd wahrnehmbar, während er in der Kontrolle (s. Versuch 2) noch nach einer Woche durchdringend zutage trat. Die Digestion wurde auf 7 Tage ausgedehnt. Das Gärgut zeigte keine Aldehydreaktion mehr und reduzierte in der Kälte langsam *Fehling*sche Mischung. Das Gesamtvolumen betrug 350 ccm; davon wurde $^1/_5$ = 70 ccm mit 7 g p-Nitrophenylhydrazin, das in Alkohol unter Zugabe von Essigsäure gelöst war, 2½ Stunden im Wasserbade erhitzt. Dabei schieden sich 2,36 g p-Nitrophenylosazon des Acetoins ab. Dieses Rohprodukt besaß einen F. von 308 bis 312°. Zum Filtrat, das von dem Rohosazon ablief, wurde ½ g p-Nitro-phenylhydrazin gefügt und das Ganze nochmals 2½ Stunden erhitzt. Es erfolgte aber keine weitere Abscheidung von Osazon.

Die 2,36 g Rohosazon wurden aus Pyridin + Eisessig umkristallisiert; die nunmehr leuchtend rote Verbindung wurde mit Alkohol und Äther nachgewaschen (F. 319°) und nach erzielter Gewichtskonstanz (andauerndem Trocknen im Hochvakuum über $P_2O_5$) der Stickstoffanalyse unterworfen.

0,1068 g Substanz: 21,4 ccm N (19°, 770 mm).

$C_{16}H_{16}N_6O_4$. Ber. N = 23,60 Proz.; gef. N = 23,73 Proz.

2,36 g Osazon entsprechen[2]) 2,36 . 0,371 g = 0,875 g Acetoin. Im fünften Teile des Gärgutes war ursprünglich 1 g Acetaldehyd vorhanden; mithin ist der Ertrag an Acetoin = 87,5 Proz. in bezug auf den angewandten Acetaldehyd.

*2. Versuch. Kontrolle zu 1., mit Bierhefe und Acetaldehyd ohne Glucose.*

In 250 ccm Wasser wurden 50 g Patzenhofer Bierhefe aufgeschlämmt; dann wurden 50 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung hinzugesetzt. Nach

---

[1]) Hier wie im folgenden bedeuten die Prozentzahlen für Acetaldehyd das Verhältnis desselben zur Menge des angewendeten Zuckers.

[2]) *C. Neuberg* und *A. v. May*, l. c.

einwöchigem Stehen bei Zimmertemperatur erfolgte die Aufarbeitung. Die filtrierte Mischung drehte = — 0,3° (2-dcm-Röhre). Die Acetaldehydreaktion war noch deutlich positiv. Das Gesamtvolumen machte 343 ccm aus. Davon wurde zunächst $^1/_5$ der Destillation mit Wasserdampf zwecks Abtreibung des unveränderten Acetaldehyds unterzogen. Im Destillat wurden alsdann 0,5067 g Acetaldehyd wiedergefunden. Da $^1/_5$ des Gemenges 1 g Acetaldehyd zu Anfang enthalten hatte, waren also 0,4933 g verschwunden. Ein anderes Fünftel wurde zur Gewinnung des Osazons mit 6 g p-Nitro-phenylhydrazin in der geschilderten Weise behandelt. Es resultierten 0,2703 g Osazon vom F. 308 bis 310°. Dieser Menge entsprechen 0,2703 . 0,371 = 0,1003 g Acetoin oder 10,03 Proz. des eingeführten Quantums Acetaldehyd.

*3. Versuch mit Rohrzucker und 15 Proz. Acetaldehyd.*

50 g Rohrzucker in 500 ccm Wasser wurden mit 50 g Bierhefe (Patzenhofer) zusammengebracht und nach Beginn der Gärung mit 75 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung = 7,5 g Aldehyd versetzt; das sind 15 Proz. vom verwendeten Zucker. Nach 8 Tagen war die Gärung beendet. Das Volumen belief sich zum Schluß auf 630 ccm. Die Acetaldehydprobe fiel negativ aus. Ein Sechstel des filtrierten Gärgutes wurde mit 7 g p-Nitrophenylhydrazin behandelt und lieferte 3,19 g des Osazons. Für das ganze Gärgut war also die Ausbeute daran 19,14 g; diese wiederum zeigen 19,14 . 0,371 = 7,10 g Acetoin an; berechnet auf den angewandten Acetaldehyd (7,5 g), stellt sich die Ausbeute auf 94,6 Proz. Acetoin.

*4. Versuch. Kontrolle zu 3., mit Acetaldehyd und Bierhefe ohne Rohrzucker.*

50 g Hefe wurden in 500 ccm Wasser verteilt; darauf wurden 75 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung hinzugefügt. Nach achttägiger Versuchsdauer wurde zunächst durch Destillation und Analyse erkannt, daß in $^1/_5$ des Ansatzes noch 0,5518 g unveränderter Acetaldehyd zugegen waren; mithin sind von den 1,5 g Acetaldehyd, die dem verarbeiteten Fünftel ursprünglich zugeführt waren, 0,9482 g = 63,21 Proz. nicht mehr vorhanden gewesen. Zur Isolierung von Acetoin in Form des Nitro-osazons diente die Hälfte der Urlösung. Die Osazonmenge wog 0,1365 g, die 0,1365 . 0,371 = 0,0506 g Acetoin entsprechen. Für das ganze Material macht die Ausbeute 0,1012 g oder 1,35 Proz. des benutzten Acetaldehyds aus.

*5. Versuch mit Rohrzucker und 20 Proz. Acetaldehyd.*

In eine Lösung von 20 g Rohrzucker in 200 ccm Wasser wurden 20 g Patzenhofer Bierhefe eingetragen; nach erfolgter Angärung wurden 40 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung hinzugegeben. Dauer und Verhalten wie bei Ansatz 1; Drehung des Gärgutes — 2,7° im 2-dcm-Rohr. Aus $^1/_4$ Urlösung wurden 2,65 g Nitro-osazon vom F. 315° erhalten, die 2,65 . 0,371 = 0,9831 g Acetoin bedeuten. In $^1/_4$ Urlösung war anfangs 1 g Acetaldehyd zugegen; somit erreichte der Ertrag an Acetoin 98,31 Proz.

*6. Versuch. Kontrolle zu 5., mit Acetaldehyd und Bierhefe ohne Saccharose.*

Zu einer Aufschwemmung von 25 g Bierhefe in 250 ccm Wasser kamen 50 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung. Nach 8 Tagen wurde $^1/_5$ des Digerates mit Dampf destilliert. Aus dem Übergegangenen wurde mittels

Dimethyl-hydroresorcin 1,8190 g reines Aldomedon vom F. 139 bis 140° gewonnen. Diese Menge entspricht 1,819 : 7 = 0,2598 g Acetaldehyd, die folglich beim Aufbewahren der Bestandteile übrig geblieben waren. Vom Gesamtaldehyd waren also 74,02 Proz. nicht mehr vorhanden.

In einem anderen Fünftel wurde dann das Acetoin in Form des p-Nitro-phenyl-osazons abgeschieden. Es resultierten 0,9360 g, die 0,3472 g Acetoin äquivalent sind; die Ausbeute belief sich also auf 34,7 Proz. vom angewandten Aldehyd.

**B. Ansätze mit obergäriger Hefe.**

*7. Versuch mit Glucose und 20 Proz. Acetaldehyd.*

25 g Glucose in 250 ccm Wasser wurden mit 25 g käuflicher Brennereihefe zur Angärung gebracht und mit 250 ccm 10proz. Acetaldehydlösung beschickt. Da der Zuckerzerfall bei Zimmertemperatur nur langsam fortschritt, so wurden nach 6 Tagen weitere 10 g der obergärigen Hefe nachgefüllt. Acetaldehyd und Traubenzucker waren nach insgesamt 10 Tagen verschwunden; die Drehung belief sich auf — 0,35°. Aus $^1/_5$ des Gärgutes wurden 0,36 g Nitro-osazon erhalten, die 0,1336 g Acetoin entsprechen; folglich betrug die Ausbeute daran 13,36 Proz., bezogen auf den angewandten Acetaldehyd.

*8. Versuch mit Rohrzucker und 20 Proz. Acetaldehyd.*

25 g Rohrzucker in 250 ccm Wasser, 25 g Brennereihefe und 50 ccm 10proz. Acetaldehydlösung. Nach 6 Tagen erfolgte nochmals eine Hefenzulage von 10 g; die Gärung war nach 12 Tagen beendet. Das Gärgut wies eine Drehung von — 0,30° auf und war frei von Acetaldehyd. $^1/_5$ lieferte 0,2750 g p-Nitro-phenylosazon = 0,1020 g Acetoin. Ausbeute 10,20 Proz. vom angewandten Acetaldehyd.

In einem anderen aliquoten Teile des Gärgutes wurde mit Phenylhydrazin das gewöhnliche *Phenyl-osazon des Acetoins* zur Abscheidung gebracht. Es bildete schöne hellgelbe Kriställchen vom F. 243 bis 245° und wurde zur Analyse aus 70proz. Pyridin umkristallisiert.

0,0981 g Substanz: 17,7 ccm N (18°, 764 mm).

$C_{16}H_{18}N_4$. Ber. N = 21,05 Proz.; gef. N = 21,28 Proz.

*9. Versuch. Kontrolle zu 7. und 8., mit Oberhefe und Acetaldehyd allein.*

25 g Bäckerhefe in 250 ccm Wasser und 50 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung. Nach 6 Tagen wurden analog den Hauptversuchen weitere 10 g Oberhefe zugegeben. Nach 12 Tagen Aufarbeitung. In $^1/_5$ des Digerates wurden 0,6630 g oder rund $^2/_3$ des angewandten Acetaldehyds wiedergefunden. Die Osazonmenge belief sich auf 0,0595 g; daraus errechnet sich das Acetoin zu 0,0220 g und der Ertrag daran zu 2,2 Proz. des dargebotenen Aldehydquantums.

*10. Versuch mit Rohrzucker und 20 Proz. Acetaldehyd.*

Ansatz vollkommen analog dem Versuch 1; benutzt wurde die reine Oberhefe von der zuvor angegebenen Art. Ausbeute von 93,15 Proz. Acetoin.

*11. Versuch mit Fructose und 20 Proz. Acetaldehyd.*

Mengenverhältnisse und Hefe wie bei Versuch 10. Ausbeute 112 Proz. Acetoin. Dieser hohe Ertrag mit Fruchtzucker weist ebenfalls darauf hin, daß aus dem Kohlenhydrat hervorgegangener Acetaldehyd in die Reaktion einbezogen wird.

*12. Versuch. Kontrolle zu 10 und 11, mit der gleichen obergärigen Hefe und Acetaldehyd allein.*

Gefunden wurden 30,27 Proz. Acetoin.

### C. Zellfreie Ansätze.

*13. Versuch mit Mazerationssaft, Rohrzucker und 20 Proz.-Acetaldehyd.*

In 600 ccm Hefesaft, der nach Vorschrift aus 600 g Trockenhefe und 2100 ccm Wasser gewonnen worden war, wurden 60 g Rohrzucker aufgelöst; nach Beginn der Gärung wurden 120 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung hinzugegeben. Das Gemenge blieb im Brutschrank bei 30° stehen. Die Gärung verlief nach dem Aldehydzusatz langsamer und kam nach 2 Tagen zum Stillstand. Da noch reichlich Zucker vorhanden war, wurden 370 ccm frischen Saftes nachgefüllt, ebenso nach weiteren 2 Tagen 355 ccm und nach abermals 4 Tagen 710 ccm. Das Gesamtvolumen belief sich schließlich auf 2160 ccm. Nach 11 Tagen wurde der Versuch abgebrochen, ungeachtet geringer Mengen Zuckers, die noch nachweisbar waren. Die Aufarbeitung geschah gemäß der im voraufgehenden beschriebenen Methode.

Aus einem aliquoten Teile des enteiweißten und gereinigten Gärgutes, dem ein Gehalt von 4,81 g Acetaldehyd entsprach, wurde das p-Nitrophenylosazon bereitet. Das Rohprodukt, das unscharf schmolz, hatte ein Gewicht von 2,2 g; es wurde aus Pyridin + Eisessig umkristallisiert und lieferte bei dieser nicht verlustlosen Behandlung 0,380 g einwandfreies Osazon. Diese zeigen 0,380 . 0,371 = 0,1409 g Acetoin an. Mit einem anderen Teile des ursprünglichen Gärgutes wurde auch zur Abtrennung des noch vorhandenen Acetaldehyds eine Destillation vorgenommen. Die Analyse ergab, daß 0,03 g Acetaldehyd in dem auf Osazon verarbeiteten Quantum der Maische verblieben waren; folglich waren höchstens 4,78 g Acetaldehyd in Reaktion getreten; die Ausbeute[1]) an Acetoin belief sich auf

$$\frac{0,38 \cdot 100}{4,81} = 7,90 \text{ Proz.}$$

*14. Versuch mit Saft und Acetaldehyd allein, Kontrolle zu 12.*

Zu 200 ccm Saft aus derselben Trockenhefe wurden 40 ccm einer 10proz. Acetaldehydlösung gegossen. Nach elftägigem Verweilen bei 30° wurde wie bei Versuch 13 verfahren. Im ganzen wurden 0,02 g p-Nitrophenyl-osazon erhalten; mithin waren nur Spuren von Acetoin aufgetreten.

*15. Versuch mit zuvor gekochtem Saft und Acetaldehyd unter Zugabe von wenig Alkohol sowie Essigsäure.*

300 ccm Hefesaft wurden im Wasserbade koaguliert und nach dem Abkühlen mit 4 g Acetaldehyd, 0,92 g Äthylalkohol und 1,2 g Eisessig versetzt. Nach elftägiger Aufbewahrung im Brutschranke wurde in der geschilderten Weise auf das p-Nitrophenyl-osazon verarbeitet; es schied sich jedoch nichts ab. Folglich enthält der Kochsaft keine Agenzien, die eine acyloinmäßige Aneinanderlagerung zweier Moleküle Acetaldehyd bewirken.

### Ergebnisse.

1. Im Verlaufe der normalen alkoholischen Zuckerspaltung, die sich als ein innerlich ausgeglichenes System oxydativer und reduktiver Leistungen darstellt, tritt kein Acetoin auf.

---

[1]) Zu bedenken ist, daß im Thermostaten ein Teil des zugefügten und einige Zeit in freiem Zustande vorhandenen Acetaldehyds einfach entweicht.

2. Setzt man zu einer gärenden Zuckerlösung jedoch Acetaldehyd, so erfolgt eine carboligatische Bindung desselben. Es kommt — formal durch Acyloin-kondensation von 2 Mol. Acetaldehyd — zu einer Kohlenstoff-Kettensynthese. Dabei entsteht als Körper der 4-Kohlenstoffreihe das Acetoin: $CH_3 . COH + HOC . CH_3 = CH_3 . \overset{*}{C}HOH . CO . CH_3$.

3. Das gebildete Produkt ist optisch aktiv, der Vorgang also biologischer Natur.

4. Diese Kernsynthese läßt sich erreichen, einerlei ob Rohrzucker, Lävulose oder Glucose das vergärende Kohlenhydrat sind.

5. Mit Hilfe von Unterhefe und reiner Oberhefe können 100 Proz. des verwendeten Acetaldehyds in Acetoin übergeführt werden. Käufliche Bäckerhefe, die allerdings nicht in einwandfreier Gestalt zur Verfügung stand, lieferte eine geringere Ausbeute an Acetoin.

6. Das Acetoin wird auch in zellfreien Göransätzen, also rein fermentativ, aus Zucker und Acetaldehyd erzeugt.

7. Die quantitativen Beziehungen sprechen dafür, daß ein Teil des zum Acyloin zusammengeschlossenen Acetaldehyds aus dem zerfallenden Zucker stammt.

8. Zum erstenmal ist hier die Bildung von Acetoin bei der Vergärung von Traubenzucker, Fructose sowie von Saccharose durch Hefe erzwungen worden.

9. Die jedenfalls formelgemäß am Molekül des Acetaldehyds vollzogene Reaktion, die Acyloin-kondensation, ist gänzlich verschieden von der mit rein chemischen Mitteln herbeigeführten und auch für physiologische Fragen fast ausschließlich berücksichtigten Aldolkondensation ($CH_3 . CHO + CH_3 . CHO = CH_3 . CHOH . CH_2 . CHO$).

10. Es scheint uns von grundsätzlicher Bedeutung, daß wir für den Kohlenhydratabbau von neuem [1]) haben zeigen können, wie beim Zusammentreffen von ungewöhnlichen Mengen eines intermediären und schon auf der Bahn der Oxydation liegenden Spaltungsproduktes — des Acetaldehyds — mit dem in normaler Umwandlung begriffenen Ausgangsmaterial — dem Zucker — gewissermaßen eine Umkehr der im Gang befindlichen Zerlegung einsetzt und in eindeutiger Weise der Weg des biochemischen Aufbaues beschritten wird. Im vorliegenden Falle handelt es sich um die wichtigste Art der Biosynthese, um die Kohlenstoff-ketten-bildung aus niederen Bruchstücken.

---

[1]) Vgl. *C. Neuberg*, Ber. **55**, 3624, 1922.

# Autorenverzeichnis.